



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS GENÉTICO DE COMPROMISOS DE HISTORIA DE
VIDA (*TRADE OFFS*) DE MOSCAS *DROSOPHILA*
MELANOGASTER PROVENIETES DE AMBIENTES
CONTRASTANTES EN EL NIVEL DE CONTAMINACIÓN POR
METALES PESADOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

ARALIA VICTORIA RAMOS RAMÍREZ

DIRECTORA DE TESIS

DRA. GEORGINA JIMÉNEZ AMBRIZ

LABORATORIO DE GENÉTICA Y EVOLUCIÓN

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2018





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno
Ramos
Ramírez
Aralia Victoria
56138726
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306039119
2. Datos del tutor
Dra.
Georgina
Jiménez
Ambriz.
3. Datos del sinodal 1
Dra.
Rosario
Rodríguez
Arnáiz
4. Datos del sinodal 2
Dr.
Rodolfo Omar
Arellano
Aguilar
5. Datos del sinodal 3
Dr.
Alejandro
Córdoba
Aguilar
6. Datos del sinodal 4
Biól.
Alejandro
Frías
Villegas
7. Datos del trabajo escrito
Análisis genético de compromisos de historia de vida (trade offs) de moscas *Drosophila melanogaster* provenientes de ambientes contrastantes en el nivel de contaminación por metales pesados
105p
2018

Dedicatoria

A mis padres

Agradecimientos

Quisiera agradecer a las siguientes personas e instituciones por las aportaciones hechas para la realización del presente trabajo:

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación personal y académica que me ha brindado desde la preparatoria.

A la Facultad de Ciencias por albergar mis estudios profesionales y ser recinto de experiencias invaluableles.

A la Dra. Georgina Jiménez Ambriz, por su paciencia, experiencia y apoyo durante la elaboración de este trabajo, a pesar de todas las dificultades por las que atravesamos. Gracias por no soltar mi mano.

Al Laboratorio de Genética y Evolución dirigido por la Dra. Rosario Rodríguez Arnáiz, por el apoyo técnico, académico y presupuestal para el desarrollo del presente trabajo. Asimismo, a la Dra. Rodríguez por su revisión a mi trabajo y apoyo durante el proceso experimental en el laboratorio.

A los miembros del jurado: Dr. Alejandro Córdoba, Dr. Omar Arellano y Biól. Alejandro Frías por revisar mi trabajo y enriquecerlo con sus observaciones.

A Mariana por acompañarme en la travesía hasta el punto en que tuvimos que tomar caminos separados; y a Marco, quien sacrifico un domingo para ayudarnos en el laboratorio.

A todos mis buenos profesores durante toda mi formación académica.

Principalmente, agradezco a mis padres por su incalculable apoyo y amor.

Papá gracias por ser ejemplo de constancia y determinación; por ser inspiración y modelo a seguir; por enseñarme que hay más de un camino para forjar las metas. Te admiro mucho. Siempre querré crecer para ser un poco como tú.

Mamá gracias por ser mi compañera, mi confidente, por entenderme mejor que nadie y ser mi gran soporte, por tu sensibilidad y ayuda. Esas pláticas nocturnas son parte esencial de mí día a día y tienen un lugar especial en mis memorias.

A mi familia, en especial a mi K; a mis tías Tina y Licha, y a mis primos Beto y Marti por su enorme cariño. Los quiero.

A la voz de mi consciencia, Aura.

A mis amigos, en especial a Miriam, Mariana, a mi hermanita Leidy, a pesar de la distancia, y a mis compinches Jorge, Aletzi, Bertha y Sara; por el ánimo.

Y por último, pero no por ello menos importante, a Tezkoatl por los nuevos horizontes.

La Dra. Georgina Jiménez Ambriz contó con el apoyo del **Programa de Formación e Incorporación de Profesores de Carrera en Facultades y Escuelas para el Fortalecimiento de la Investigación (PROFIP)** durante la realización de este proyecto como Profesora de Carrera en el laboratorio de Genética y Evolución en la Facultad de Ciencias 2010-2012.

Índice

Resumen	10
Capítulo 1. Introducción General	11
Estrés y adecuación.....	12
Metales pesados y adaptación	13
Teoría de Evolución de las Historias de Vida	15
Compromisos y restricciones	16
Factores que determinan los compromisos de historias de Vida	18
Medición de los compromisos de Historia de Vida	22
Aproximación de la genética cuantitativa en las correlaciones genéticas.....	22
Capítulo 2. Análisis de la relación entre el tiempo de desarrollo y longevidad en machos, bajo condiciones de estrés ambiental por metales pesados	26
Introducción	26
Longevidad.....	26
Tiempo de desarrollo	28
Tiempo de desarrollo y longevidad en ambientes estresantes	29
Hipótesis.....	30
Objetivos	30
Métodos	31
Poblaciones experimentales	33
Diseño experimental	34
Tratamientos	35
Medición de caracteres de Historia de Vida	35
Tiempo de desarrollo	35
Longevidad	36
Análisis fenotípico.....	36
Análisis genético	37

Resultados.....	42
Análisis de covariación del tiempo de desarrollo y longevidad en machos	42
Correlación genética entre tiempo de desarrollo y longevidad en machos.....	45
Discusión	48

Capítulo 3. Análisis de la relación entre la fecundidad y los caracteres de Historia de Vida: longevidad en machos, supervivencia a la edad adulta y tiempo de desarrollo, bajo condiciones de estrés ambiental por metales pesados 53

Introducción.....	53
Costos de la reproducción	54
Costos de la tolerancia	56
Compromisos entre la fecundidad y otros caracteres de Historia de Vida en presencia de metales pesados	58
Hipótesis.....	58
Objetivos	60
Métodos.....	60
Medición de caracteres de Historia de Vida	61
Tiempo de desarrollo y longevidad	61
Supervivencia a la edad adulta	61
Fecundidad	61
Análisis fenotípico.....	62
Análisis genético	64
Resultados.....	64
Relación entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo	64
Análisis fenotípico.....	64
Análisis genético.....	67
Relación entre la fecundidad y la supervivencia en la edad adulta.....	68
Análisis fenotípico.....	68
Análisis genético.....	69
Relación entre la fecundidad y la longevidad en machos	72

Análisis fenotípico.....	72
Análisis genético.....	72
Discusión.....	74
Fecundidad y tiempo de desarrollo.....	75
Fecundidad y supervivencia a la edad adulta.....	79
Fecundidad y longevidad en machos.....	82
Conclusiones generales.....	85
Capítulo 4. Discusión general.....	87
Referencias.....	94

Resumen

Un ambiente contaminado por metales pesados puede imponer una presión selectiva, la cual puede desembocar en la adaptación de algunos de los organismos que en él habitan. Una de las adaptaciones a metales pesados es la tolerancia a los mismos, la cual, puede afectar la distribución energética entre distintas funciones, generando compromisos entre los diferentes caracteres de historia de vida de los organismos. En el presente trabajo analizamos la relación entre los compromisos de historias de vida y la tolerancia a metales pesados en poblaciones experimentales de *Drosophila melanogaster*, originadas a partir de moscas colectadas en un ambiente contaminado y en uno no contaminado por metales pesados. Para ello se realizó un experimento de genética cuantitativa de medios hermanos en el que las familias experimentales fueron expuestas a tres diferentes concentraciones de $ZnCl_2$ (0 mM, 5mM, 10mM) y se analizó, a nivel fenotípico y genético, la asociación entre los siguientes caracteres de historia de vida: fecundidad, tiempo de desarrollo, sobrevivencia a la edad adulta y longevidad en machos. El experimento se llevó a cabo después de que las poblaciones fueran sometidas a 20 generaciones de endogamia en condiciones de laboratorio. Los análisis permitieron observar que las poblaciones estaban diferenciadas debido a que presentan un trasfondo genético diferente y a que, durante las 20 generaciones de endogamia, hubo selección sobre la condición de los organismos, especialmente en la población de origen contaminado, la cual mostró estar maladaptada al tratamiento de alta concentración de zinc al momento del experimento, probablemente, debido a los costos de la tolerancia. Asimismo, se observó una posible preadaptación de la población de origen no contaminado a los metales pesados. También se observó que la mayoría de las correlaciones y compromisos son plásticos. A nivel fenotípico, se observó un compromiso fisiológico entre tiempo de desarrollo y fecundidad; y entre el tiempo de desarrollo y la longevidad para ambas poblaciones, sin embargo, los resultados del análisis genético no permitieron determinar si este compromiso es heredable. Finalmente se proponen mejoras en el protocolo experimental y las posibles perspectivas técnicas para el análisis de las correlaciones genéticas y de la adaptación de organismos a ambientes modificados.

Capítulo 1

Introducción General

“El objetivo de la ciencia es dar explicaciones simples de las cosas complejas (...) las explicaciones simples en la evolución de las historias de vida son raras.”

—Stephen C. Stearns

Un ambiente contaminado puede someter a las poblaciones a estrés, entendiendo por estrés a las condiciones medio ambientales que reducen substancialmente el desempeño de los organismos (Stanton et al., 2000). Un ejemplo de ello, son los ambientes contaminados por metales pesados, donde los altos niveles de toxicidad pueden afectar negativamente el crecimiento y la reproducción de los organismos. Como respuesta al estrés, las poblaciones pueden extinguirse o desarrollar adaptaciones que les permitan sobrevivir. Sin embargo, la evolución de estas adaptaciones puede generar un costo fisiológico que se ve reflejado en la adecuación.

En *Drosophila melanogaster* la resistencia al estrés ha sido extensamente estudiada bajo una perspectiva evolutiva. En su ecología, la resistencia al estrés es importante y está fuertemente relacionada con los caracteres de historia de vida (Hoffmann et al. 2001). Los compromisos de historia de vida, que pueden generarse debido a los costos de la resistencia al estrés, pueden desempeñar un papel importante como limitantes de la evolución simultánea de dos o más caracteres de historia de vida (Stearns, 1992).

El presente trabajo se centró en responder a la pregunta sobre si las poblaciones provenientes de ambientes contrastantes presentan variación en los compromisos entre sus caracteres de historia de vida; y si estos compromisos son modificados por un ambiente estresante. Por ello, se buscó analizar la presencia de los posibles compromisos de historia de vida, que se pueden generar en poblaciones de *D. melanogaster* provenientes de ambientes contaminados y no contaminados por metales pesados; y que

fueron sometidas a diferentes concentraciones de Zinc. En este capítulo presentaremos una introducción a los aspectos teóricos necesarios para entender los efectos evolutivos del estrés ambiental en los caracteres de historias de vida y en los compromisos entre estos caracteres en los organismos. Estos aspectos son conceptos básicos de las historias de vida y su estudio; así como de la adaptación a ambientes contaminados por metales pesados.

Estrés y adecuación

No existe una definición general de la adecuación (*fitness* en inglés) y cada análisis de adaptación involucra una definición que ayuda a resolver el problema planteado en cada investigación (Stearns, 1992). Sin embargo, podemos entender a la adecuación como el desempeño reproductivo de los organismos (Braendle et al., 2011) e involucra propiedades cuantitativas y demográficas de estos, como la sobrevivencia y la fecundidad (Stearns, 1992; Braendle et al., 2011). Otra definición de adecuación es dada por Futuyma (2013), quién la define como la contribución media de vida de los individuos de un genotipo a la generación siguiente en la población, es decir, como éxito reproductivo. Desde el punto de vista demográfico, se define a través del parámetro Malthusiano, llamado tasa instantánea de incremento natural (r); que describe el crecimiento de la población por la suma de eventos reproductivos y probabilidades de sobrevivencia en la vida completa de los individuos (Stearns, 1992; Roff, 2002; Braendle et al., 2011).

Por otro lado, podemos definir al “estrés” como las condiciones medio ambientales que reducen sustancialmente la adecuación de los organismos (Stanton et al., 2000). Se considera que todo tipo de estrés puede incrementar la selección y afectar la variación fenotípica y genética de los caracteres, reduciendo su desempeño y su heredabilidad (Stanton et al., 2000). Por ejemplo, en *D. melanogaster* se ha observado un aumento de adecuación en ambientes contaminados a costa de una reducción en el crecimiento

(Shirley y Sibly, 1999). Este ejemplo muestra que el ambiente impone compromisos (*Trade-off*, en inglés) entre los caracteres de historia de vida de los organismos.

Metales pesados y adaptación

Un tipo de estrés al que los organismos están expuestos es, a menudo, la contaminación causada por metales pesados.

Los metales pesados se definen como aquellos metales con un densidad igual o mayor a 6 g/cm^3 , pueden ser elementos potencialmente tóxicos (Bautista, 1999) y constituyen uno de los componentes más persistentes y con más efectos directos e indirectos en poblaciones, tanto vegetales como animales (Eraly et al., 2011). Por ejemplo, en la araña *Pardosa saltans*, bajo concentraciones altas de cadmio (Cd), se observó una disminución en el número de prole y la reproducción fue pospuesta (Eraly et al., 2011). La contaminación por metales pesados puede causar alteraciones en varios niveles de organización en muchas especies (Brulle et al. 2007). El impacto de este tipo de contaminación, a nivel de poblaciones, puede desencadenar un efecto cascada ecológico (Eraly et al., 2011) si, por ejemplo, las especies sensibles a los metales pesados tienen un papel clave en el ciclo de los nutrientes (Posthuma y van Straalen, 1993). Sin embargo, los organismos no están del todo desprotegidos contra los efectos de los metales pesados. Los organismos que sobreviven en este tipo de ambientes cuentan con diferentes mecanismos de resistencia al estrés (Eraly et al, 2011; Staton et al., 2000; Brulle et al. 2007). Éstos son, según Posthuma y van Straalen (1993) el “*Evitamiento*” (*Avoidance* en inglés) que incluye compartimiento y barreras mecánicas, cuyo propósito es evitar la entrada de los metales al organismo; y la “*Tolerancia*” que permite prevenir, disminuir o reparar los efectos tóxicos de los metales pesados una vez que han ingresado en el organismo. Entre estos mecanismos podemos mencionar la duplicación del gen de las metaloproteínas, proteínas que se unen a los metales evitando así que éstos se unan a otras estructuras celulares, y que son parte de la adaptación a metales pesados en *D.*

melanogaster (Brulle et al., 2007; Eraly et al. 2011; Posthuma y van Straalen, 1993; Shirley y Sibly, 1999).

En el caso de la tolerancia y su estudio es importante distinguir entre sus posibles causas. Éstas pueden ser (Posthuma y van Straleen, 1993; Morgan et al., 2007):

1. Aclimatización: es un tipo de plasticidad fenotípica, que se da cuando un individuo adquiere un grado de tolerancia después de haber sido expuesto a una concentración sub-letal de metales pesados en algún periodo de su vida. La tolerancia puede ser inducida y perderse en una misma generación.
2. Adaptación: implica que una población ha evolucionado un grado de tolerancia a través de la selección natural, la cual operó sobre la variación genética de la tolerancia entre individuos. La tolerancia es heredada a la siguiente generación.

La adaptación a los metales pesados ha constituido un ejemplo de selección natural en acción (Jiménez-Ambriz, 2006). Se considera que esta selección es direccional, fuerte y continua; y que tiene algunas consecuencias sobre la adecuación, llamadas *costos de tolerancia*, (Posthuma y van Straalen, 1993) de las que hablaremos con más detalle en el capítulo 3.

La tolerancia ha sido estudiada en algunas especies de invertebrados terrestres y en plantas (Jiménez-Ambriz, 2006). Entre los organismos en los que se ha encontrado adaptación a los metales pesados se encuentra *Drosophila melanogaster*, tanto en poblaciones naturales, como inducida en líneas de laboratorio (Posthuma y van Straalen, 1993).

La distribución de energía sobre la tolerancia y otras funciones es de gran importancia, ya que puede restringir la respuesta evolutiva y generar compromisos entre caracteres (Edward y Champman, 2011).

Teoría de Evolución de las Historias de Vida

La teoría de la evolución de las historias de vida se enfoca en el análisis de la variación y la interacción de los diferentes caracteres de desarrollo, reproductivos y demográficos en una población (Stearns, 1992; Roff, 2002; Braendle et al, 2011). Según Braendle et al. (2011), las historias de vida describen los patrones de crecimiento, maduración, reproducción y supervivencia de los organismos; varían entre individuos, poblaciones, especies y ambientes; y abarcan todos los eventos de la vida de un individuo desde su nacimiento hasta su muerte.

Los caracteres de historia de vida son esas propiedades cuantitativas y demográficas de los organismos, que están relacionadas con la adecuación (Braendle et al. 2011). Los principales caracteres de historia de vida según Stearns (1992) son:

- Tamaño al nacer
- Patrón de crecimiento
- Edad de maduración
- Tamaño al madurar
- Número, tamaño y proporción de sexos
- Edad y tamaño específicos de inversión reproductiva
- Edad y tamaño específicos de mortalidad
- Tiempo de vida

En los organismos se presentan muchas combinaciones diferentes de estos caracteres, que afectan la adecuación, como, por ejemplo: la reproducción actual y la longevidad, la reproducción actual y la reproducción futura; o número, tamaño y el sexo de la progenie (Stearns, 1992). De ahí el interés y complejidad de la evolución de las historias de vida.

La investigación sobre historias de vida busca comprender la variación en los patrones de historias de vida y los procesos evolutivos que los forman; así como comprender cómo, dados los compromisos internos y las restricciones, estos procesos pueden optimizar una

combinación de caracteres de historia de vida, que maximice el éxito reproductivo de los organismos (Braendle et al, 2011).

En ese sentido, este trabajo se enfoca en el análisis de los compromisos internos en poblaciones sujetas al estrés ambiental que presupone la contaminación por metales pesados, como lo es el zinc (Zn).

Compromisos y restricciones

Uno de los postulados de la teoría de historia de vida es que el valor y las combinaciones de estos caracteres están enmarcados por compromisos y restricciones que limitan directamente la respuesta evolutiva a la selección natural (Braendle et al, 2011).

Una restricción se refiere a factores físicos, propiedades de desarrollo o contingencias históricas, que limitan la expresión de cierto fenotipo o que una población alcance una adecuación óptima. Stearns (1992), las define como conexiones funcionales entre caracteres fijados dentro de la filogenia de un organismo o especie. Las restricciones pueden ser: filogenéticas (Braendle et al, 2011; Futuyma, 2013) biomecánicas y sistémicas (Stearns, 1992).

Los compromisos tienen un papel central en esta teoría, se definen como la relación entre caracteres de historia de vida, que limita la evolución simultánea de dos o más caracteres (Stearns, 1992). Un compromiso ocurre cuando se invierten recursos en un componente de la adecuación y se reducen en otro (Braendle et al, 2011) o cuando una ventaja en un carácter está correlacionada con la desventaja de otro (Futuyma, 2013).

La clasificación de los tipos de compromisos también varía de autor en autor, en este caso mostraremos la clasificación dada por Braendle et al. (2011):

- Compromisos fisiológicos: se manifiestan a nivel fisiológico o individual y se deben a limitaciones de energía. Son una respuesta al ambiente y no necesariamente son heredables.
- Compromisos genéticos: se manifiestan a nivel poblacional, se definen como correlaciones genéticas negativas entre caracteres o como respuestas evolutivas a la selección. Tienen su raíz en la pleiotropía antagónica o en el desequilibrio de ligamiento (genes que no segregan independientemente).

Los compromisos pueden ser plásticos, cuando están motivados o impuestos por el ambiente y dependen de éste; se pueden observar a través de una correlación ambiental negativa. En contraparte, una correlación genética negativa, denota un compromiso determinado genéticamente, que se hereda y que tiene potencial evolutivo.

Otra clasificación de los compromisos implica el tipo de caracteres que lo componen, ya sean: aquellos que involucran caracteres relacionados directamente con la adecuación, como lo son la edad de la madurez, fecundidad y sobrevivencia; y los que involucran caracteres relacionados indirectamente con la adecuación, como lo es el tamaño de cuerpo (Roff, 2002).

Los compromisos que afectan directamente a la adecuación son considerados los más importantes, puesto que limitan las respuestas evolutivas a una combinación óptima de caracteres (Roff, 2002; Braendle et al, 2011). Bajo el mismo tenor Stearns (1999) y Edward y Chapman (2011), mencionan que los compromisos más importantes son aquellos que imponen un costo a la reproducción, siendo esta última una medida de la adecuación.

Es así que compromisos entre reproducción actual y reproducción futura; reproducción actual y sobrevivencia; número de la progenie y tamaño de la progenie; reproducción y longevidad; pueden considerarse como los más importantes dentro de la teoría de historias de vida. Los tres primeros porque describen los costos de la reproducción (Edward y Chapman, 2011) y pueden observarse directamente en los

parámetros demográficos de una población (Roff, 2002). Mientras que el último de ellos es importante porque la longevidad está relacionada con la probabilidad de sobrevivencia, carácter, a su vez, relacionado con la adecuación (Edward y Chapman, 2011).

Factores que determinan los compromisos de historias de Vida

Las correlaciones mencionadas anteriormente se encuentran sujetas a factores subyacentes a los costos de la reproducción. Harshman y Zera (2007) proponen los siguientes factores determinantes de estos compromisos:

- Regulación hormonal: las hormonas actúan como mediadoras de los costos de reproducción, debido a que regulan procesos como el crecimiento, el metabolismo, la reproducción y la longevidad. Un ejemplo de ello se observó en hembras de *Drosophila melanogaster*, en las que mutaciones en el gen codificante del receptor de insulina (DInR) provocan una disminución de la biosíntesis de la hormona juvenil (JH); el resultado son hembras estériles, que en contraparte son longevas. Es decir, debido a esta interacción entre hormonas, se establece un compromiso donde se suprime la producción de huevos, pero se incrementa la longevidad (Tatar et al., 2001).
- Mediadores del metabolismo y compromisos de asignación de recursos: Una de las ideas de las historias de vida es que la asignación diferencial de recursos internos (el modelo "Y") tiene un papel central en el costo de la reproducción y en otros compromisos (Harshman y Zera, 2007). Es así que los recursos son asignados a uno u otro carácter a través de rutas metabólicas, las cuales están bajo control hormonal y pueden alterarse por la limitación de los recursos disponibles, por ejemplo, a través del cambio en la actividad de muchas enzimas involucradas en las rutas metabólicas de una función u otra. Esto se observó en líneas seleccionadas del grillo *G. firmus* de individuos capaces y no capaces de volar, donde se encontró que las hembras de este último grupo presentan un mayor

crecimiento ovárico y una reducción de triglicéridos somáticos (que funcionan como combustible para el vuelo) en comparación con aquellas capaces de volar. Dicha divergencia se debió principalmente a que la actividad de enzimas se alteró cambiando el flujo de los nutrientes a través de una vía metabólica (Zera, 2005; Zera y Zhao, 2003); por lo que es probable que la regulación hormonal tenga un papel crucial en esto (Zera, 2005; Zhao y Zera, 2002).

Hasta aquí hemos tratado los factores llamadas por Hashrman y Zera (2007) como elementos de forma, es decir, mecanismos fisiológicos y moleculares. Los tres factores siguientes son llamados elementos efectores, es decir, los mecanismos de las diferentes funciones somáticas. Estás son:

- Función inmune: se ha observado que cuando aumenta el esfuerzo reproductivo, también lo hace la susceptibilidad de los organismos a enfermedades y al parasitismo, lo cual se interpreta como una disminución en las respuestas inmunológicas. De lo anterior deriva un compromiso entre la reproducción y las funciones inmunes; ya sea por una competencia de recursos entre ambas funciones, como se observa en *Drosophila*, donde la manipulación de los apareamientos y la dieta reveló que las hembras pierden función inmune bajo condiciones de limitación de alimentos (McKean y Nunney, 2005); o por efectos pleiotrópicos de las hormonas reproductivas, como se observó en el escarabajo de la harina *Tenebrio molitor*, en el cual se reportó que el apareamiento causa inmunosupresión por un incremento en el nivel de JH (Armitage et al. 2003).
- Glándulas accesorias de proteínas de machos de *Drosophila*: en este caso las proteínas que el macho transfiere a las hembras durante el apareamiento afectan la adecuación de las hembras, dando como resultado costos de la reproducción; por ejemplo, se ha observado que la sobrevivencia de las hembras disminuye (Lung et al. 2002), o que se presentan alteraciones en el sistema inmunológico y el metabolismo (Wigby y Champan, 2005).

- Defensa contra el estrés y la toxicidad: hay dos escenarios bajo los cuales la reproducción puede resultar en una disminución de la sobrevivencia después de una exposición a una variedad de estresantes, tóxicos u otro tipo de condiciones dañinas:
 1. Un daño somático durante la reproducción, que provoca una vulnerabilidad que se suma al estrés ambiental.
 2. La reproducción agota las reservas somáticas, limitando la energía disponible para los procesos bioquímicos que protegen al cuerpo del daño por estrés. Esto puede ocurrir porque los sistemas de desintoxicación son caros energéticamente hablando y los compromisos pueden generarse por una inversión inadecuada de recursos en el mantenimiento somático, lo que disminuye la adecuación. Por ejemplo, en *Drosophila* una serie de estudios, donde se probó el efecto de un tratamiento para estimular la producción de huevos bajo estrés oxidativo y en algunas ocasiones bajo condiciones de escasez de nutrientes; resultó en una disminución de la sobrevivencia (Chippindale et al. 1996; Salmon et al. 2001; Wang et al., 2001)

Otros factores, resultantes de mecanismos evolutivos y que pueden afectar la expresión de los compromisos son (Rose et al. 2005):

- Endogamia: algunas veces se observan cambios en la expresión de los compromisos, es decir, cambian de ser una correlación negativa a una positiva. Esto puede ser provocado por depresión endogámica, en la cual las líneas de los organismos usadas para los estudios presentan mayor grado de endogamia que otras, lo que reduce los valores de los caracteres; y da como resultado una correlación positiva. Tal como observó Rose (1984a y b) en *D. melanogaster* al analizar el compromiso entre reproducción temprana y sobrevivencia, cuyas líneas primero mostraron una correlación negativa y en un estudio posterior, con más generaciones en endogamia, la correlación cambió a positiva.

- Interacción genotipo-ambiente: en el laboratorio el grado de adaptación de las líneas experimentales puede variar, modificando los valores de los caracteres de historia de vida y provocando, nuevamente, correlaciones positivas. Tal como mostró el cambio a valores positivos en la correlación entre la fecundidad y la resistencia al hambre en un estudio en el que se compararon moscas adaptadas al laboratorio en ambientes nuevos y en su ambiente normal (Service y Rose, 1985).
- Selección temprana y a largo plazo: poblaciones bajo selección pueden cambiar sus valores fenotípicos entre más tiempo se encuentran en dicha selección, por lo que las correlaciones pueden cambiar de valor. Por ejemplo, en un análisis en poblaciones para el compromiso de resistencia al estrés y longevidad, el primer resultado arrojó un compromiso entre los caracteres de historia de vida; el segundo análisis, 100 generaciones en selección después, mostró una correlación positiva (Phelan et al., 2003).
- Trasfondo genético: Usando diferentes trasfondos genéticos se pueden esperar correlaciones diferentes entre poblaciones que se encuentran diferenciadas, como se observó en poblaciones provenientes de los cruces de otras cuatro líneas, seleccionadas para la reproducción temprana y tardía, donde los valores reportados mostraron diferencias cualitativas en la correlación entre la resistencia al hambre y la longevidad (Passananti, 2000).

Teniendo todo lo anterior en mente, nosotros seleccionamos los caracteres: fecundidad, tiempo de desarrollo, sobrevivencia a la edad adulta y longevidad, principalmente por su relación con la adecuación, para analizar los posibles compromisos que podrían generarse entre ellos. Priorizamos aquellas combinaciones con la fecundidad, esperando que los costos reproductivos se vieran evidenciados por la presencia de un estresante ambiental, como lo es la contaminación por metales pesados.

Medición de los compromisos de Historia de Vida

Hay varios métodos propuestos para medir los compromisos de historias de vida. Roff (2002) se basa en las categorías descritas por Reznick (1985, en Roff, 2002) para proponer cuatro métodos de análisis:

1. Correlaciones fenotípicas: las correlaciones entre dos caracteres medidos a nivel del fenotipo y que no involucra manipulación del organismo.
2. Manipulaciones experimentales: manipulaciones directas de un solo factor que mantienen a otros factores constantes, o asignados azarosamente.
3. Análisis en medios hermanos de correlaciones genéticas: estimación de las correlaciones genéticas entre dos caracteres usando covariación entre individuos con y entre familias, o covariación entre clones o en líneas endogámicas.
4. Correlaciones genéticas por experimentos de selección: estimación de la correlación genética entre dos caracteres usando cambios correlacionados en un carácter en respuesta a la selección u otra.

En el presente trabajo usamos la aproximación de correlaciones fenotípicas y de la genética cuantitativa, a través de la estimación de correlaciones genéticas y fenotípicas en un análisis de medios hermanos. A cada par de caracteres de historia de vida cuyas correlaciones fueron estimadas, son referidas como “asociación o relación”. Asimismo, sólo nos referiremos como “compromiso” entre caracteres de historia de vida, a aquellas correlaciones que así lo sugieran; y a aquellas correlaciones fenotípicas o genéticas que no sugieran un compromiso serán referidas como “correlación”.

Aproximación de la genética cuantitativa en las correlaciones genéticas

La aproximación de la genética cuantitativa basa su metodología en que los caracteres de historia de vida son cuantitativos, es decir, que están controlados por muchos genes y cada locus contribuye con una pequeña cantidad del valor del carácter (Roff, 1997; Stearns, 1992). Esta aproximación nos permite observar como las poblaciones

reaccionarán a una selección a corto plazo, medir la cantidad de variación genética aditiva y la respuesta de un carácter a selección; nos aporta información sobre como los genes y el ambiente han contribuido en la variación fenotípica; y provee de una unión natural entre el significado genético y ecológico de los caracteres de historia de vida; es, por lo tanto, una herramienta esencial para el análisis evolutivo simultaneo de dos o más caracteres de historia de vida (Stearns, 1992).

Los caracteres no se heredan como unidades independientes, tienden a estar asociados entre ellos, esto es una correlación genética y, según Roff (1997), ésta puede deberse a dos cosas:

1. que un subgrupo de genes, que influyen en un carácter, también lo hacen en otro (pleiotropía).
2. que los genes actúan independientemente sobre los dos caracteres, pero un apareamiento no-azaroso, selección o deriva pueden asociarlos en un fenómeno llamado: desequilibrio de ligamiento.

Este último causa asociaciones transitorias entre caracteres, mientras que el anterior es de mayor interés para los biólogos evolutivos, debido a que los efectos pleiotrópicos pueden alterar gradualmente el grado y dirección de la evolución. Las correlaciones genéticas pueden ser estimadas, como ya mencionamos, por diseños de medios hermanos (Roff, 1997). Según Stearns (1992), cuando dos o más caracteres están bajo selección al mismo tiempo el resultado evolutivo es afectado por las correlaciones genéticas entre los caracteres. Si éstas son negativas la respuesta de un carácter está constreñida por selección sobre otros caracteres.

Así mismo, los caracteres pueden estar correlacionados fenotípicamente. Las correlaciones fenotípicas son más fáciles de estimar. Éstas son una función de las correlaciones genéticas y ambientales de los dos caracteres (Roff, 1997). Tanto el diseño experimental, como los modelos y análisis estadísticos utilizados en el análisis de la relación fenotípica entre caracteres y de correlación genética en este trabajo se encuentran detallados en el capítulo 2.

Por otro lado, algunas veces, los estudios pueden revelar correlaciones que realmente no están reflejando un compromiso entre caracteres. Estas correlaciones pueden deberse, según Posthuma y van Straleen (1993), a:

- que las características asociadas a la adecuación mejoran su desempeño como una respuesta a la selección direccional;
- que otros factores ambientales covarían con el grado de contaminación, provocando correlaciones entre tolerancia y los caracteres de la adecuación causadas por desequilibrio de ligamiento y;
- que los efectos en el desempeño de algunos caracteres afecten también el desempeño de otros, y que estos caracteres se encuentren correlacionados, por lo general, negativamente.

En resumen, los compromisos de historia de vida se miden como covarianzas o correlaciones genéticas y fenotípicas entre caracteres (Braendle et al, 2011). Ambos niveles de asociación o correlación, genético y fenotípico, son complementarios y, por tanto, necesarios para definir la existencia o no de un compromiso entre caracteres de historia de vida (Pankaj y Sharma, 2014).

El presente trabajo analizó los posibles compromisos de historia de vida en dos poblaciones de origen contrastante en ambientes contaminados por metales pesados. El estudio se hizo a través del análisis de la asociación fenotípica y la correlación genética entre los siguientes caracteres de historia de vida: fecundidad y tiempo de emergencia; fecundidad y sobrevivencia a la edad adulta; fecundidad y longevidad; y tiempo de emergencia y sobrevivencia a la edad adulta. Dichas asociaciones fueron elegidas, como mencionamos anteriormente, porque los caracteres están relacionados con componentes de la adecuación y a los posibles costos de reproducción que podrían evidenciarse.

La justificación de este trabajo reside en que los estudios que analizan a los caracteres de historia de vida y su respuesta a diferentes concentraciones de metales pesados se

enfocan, en su gran mayoría, al análisis de varianza o de medición del desempeño fenotípico en ambientes contaminados. Por lo que este es un esfuerzo y un acercamiento al análisis de los posibles compromisos y correlaciones presentes entre los caracteres en condiciones de estrés ambiental por metales pesados. Nos planteamos la interrogante, como ya mencionamos, sobre si las poblaciones experimentales provenientes de ambientes contrastantes presentan variación en los compromisos entre sus caracteres de historia de vida; y si estos compromisos son modificados por un ambiente estresante. De lo cual derivamos las siguientes hipótesis generales:

- 1. Si los compromisos observados son el resultado de la adaptación a un medio estresante, entonces se espera que se expresen de manera diferente entre las poblaciones.**
- 2. Si estos compromisos fuesen plásticos, es decir, que dependan del ambiente; entonces se espera que la expresión de los mismos en una población cambie en ambientes distintos.**
- 3. Si los compromisos de historias de vida son adaptativos en el ambiente del que provienen las poblaciones, entonces esto se refleja en una correlación genética entre los caracteres.**

Los objetivos principales fueron observar la posible existencia de los compromisos entre caracteres de historia de vida en poblaciones provenientes de ambientes contrastantes en concentración de metales pesados y analizar si estos cambian en función del ambiente y la población.

En el capítulo 2 de este trabajo analizaremos la relación existente entre el tiempo de desarrollo y la longevidad en machos. En tanto que, en el capítulo 3, nos enfocaremos al análisis de las asociaciones entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo, la sobrevivencia a la edad adulta y la longevidad en machos. Finalmente, en el capítulo 4 discutiremos de manera global sobre nuestros resultados y su papel en el análisis de las correlaciones entre caracteres de historia de vida, así como una posible mirada al futuro en dichos estudios.

Capítulo 2

Análisis de la relación entre el tiempo de desarrollo y longevidad en machos, bajo condiciones de estrés ambiental por metales pesados

Introducción

Se ha observado que, en un intervalo amplio de taxa, el tiempo de desarrollo y la longevidad están correlacionados positivamente (Seyahooei et al., 2011), es decir, que, a un mayor tiempo de desarrollo, una mayor longevidad y viceversa. Esta correlación se ha observado, por ejemplo, en los peces *Stizostedion vitreum* (Charnov y Berrigan, 1990) y *Heterandria formosa* (Xie y Klerks, 2004); en lagartijas, serpientes, camarones pandálidos, mamíferos y aves (Charnov y Shine, 1990 en Charnov y Berrigan, 1990); en el coleóptero *Acanthoscelides obtecus* (Seslija y Tucic, 2003) y en avispas del genero *Asobara* (Seyahooei et al., 2011). En contraste, en poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster* se ha observado un rápido desarrollo y larga longevidad (Parsons, 2007).

En este capítulo nos interesa analizar la relación entre la longevidad y el tiempo de desarrollo bajo condiciones de estrés ambiental.

Longevidad

Uno de los componentes más importantes de la adecuación es la longevidad, la cual está determinada por mecanismos del envejecimiento. El proceso del envejecimiento se caracteriza por una respuesta débil o poco eficaz al estrés, un decremento del balance homeostático, y por enfermedades asociadas con la edad (De Loof, 2011). A parte de las teorías clásicas del envejecimiento, como lo es por acumulación de radicales libres en las

células (De Loof, 2011), se proponen otras tres teorías de la senescencia que comienzan a tomar fuerza: la teoría de acumulación de mutaciones, la teoría de pleiotropía antagónica y la teoría del envejecimiento por desarrollo. La teoría por acumulación de mutaciones propone que el envejecimiento es el producto de la actuación de mutaciones deletéreas acumuladas en el genoma a lo largo del tiempo, lo que limitaría el tiempo de vida (Partridge y Gems, 2002). La teoría de pleiotropía antagónica plantea que existen ajustes en las vías de señalización cuando las condiciones cambian (De Loof, 2011), un ejemplo de señalización se encuentra en procesos del desarrollo mediados por hormonas como la insulina u hormona juvenil, que no sólo regulan el crecimiento, sino que también son intermediarias en la asignación de recursos entre la reproducción o el resto del cuerpo (soma) (Harshman y Zera, 2006); esta teoría predice una correlación negativa entre algunos aspectos de la adecuación, como lo es entre la longevidad y la reproducción temprana (Wit et al., 2013; De Loof, 2011). Por último, la teoría del envejecimiento por desarrollo, en ella el envejecimiento es parte del propio desarrollo del organismo y predice una correlación positiva entre tiempo de desarrollo y longevidad (Chippindale et al., 1994), por ejemplo, un desarrollo rápido correlacionado con un envejecimiento también rápido (Promislow y Bugbee, 2000).

Por otro lado, también existe la suposición de que los machos “viven rápido y mueren jóvenes”, es decir, que se desarrollan, reproducen y mueren rápidamente debido a que incrementan el riesgo de mortalidad asociada con el apareamiento (Travers et al., 2015). Dicha noción se basa en que los caracteres sexuales secundarios son costosos para los machos en términos de energía e incremento de depredación, así como heridas directas, obtenidas en competición por los apareamientos (Travers et al., 2015). En insectos, los machos del grillo *Teleogryllus commodus* (Hunt et al., 1996) y de *D. melanogaster* (Travers et al., 2015; Edward y Chapman, 2013) se reproducen tempranamente y presentan menor longevidad. En otros organismos, como en el pájaro *Ficedula albicollis*, la competencia por las hembras implica una mayor asignación de recursos a los caracteres sexuales secundarios, lo que puede reducir las respuestas inmunes y como consecuencia, la longevidad se reduce (Gustafsson et al., 1995). En *D. melanogaster* existe una relación

negativa entre el esfuerzo reproductivo y la longevidad, que también puede atribuirse a hembras, tal como reportaron Travers et al. (2015) en un experimento donde cuantificaron la variación genética de la esperanza de vida y la frecuencia de los apareamientos de las hembras.

La manera en la que se comportan los diferentes caracteres de historia de vida puede modificarse según el ambiente, por ejemplo, la longevidad se incrementa en *Caenorhabditis elegans* en exposición a resveratrol (compuesto polifenólico natural al que se le atribuyen efectos anticancerosos, protección contra enfermedades ateroscleróticas y propiedades antioxidativas) y al mismo tiempo, se observa una mayor resistencia al estrés oxidativo (Gruber et al., 2007). Bajo condiciones de estrés por temperaturas extremas (tanto altas como bajas), y en líneas longevas de *D. buzzati*, se ha observado que los machos viven más que las hembras, puesto que el apareamiento resulta costoso para ellas; además tienen mayor resistencia al estrés térmico que sus pares de las líneas control (Scannapieco et al., 2009). Así mismo, en otros organismos como *C. elegans* la exposición a 30°C por 3-24 hrs muestra un incremento en la media de la longevidad comparada con los controles (Lithgow et al., 1995 en Minois, 2000).

Tiempo de desarrollo

En cuanto al tiempo de desarrollo, también se ha observado que se modifica dependiendo de las condiciones ambientales y experimentales, como lo son las variaciones en la temperatura y la densidad (Sorensen y Loeschcke, 2004; Yadav y Singh, 2007; Séyahoei et al., 2011). Por ejemplo, en *D. melanogaster* la aglomeración de larvas en temperaturas altas puede incrementar el tiempo de desarrollo y la longevidad (Sorensen y Loeschcke, 2004). En tanto que, en escarabajos se ha observado que el tiempo de desarrollo disminuye en una concentración relativamente baja de Zn y se prolonga en concentraciones más altas (Kramarz y Laskowski, 1997).

El desarrollo rápido en *Drosophila* se considera como una ventaja selectiva ya que puede reducir la competencia larval, asegurar que el desarrollo esté completo antes de que los recursos alimenticios se deterioren y permitir que se produzcan adultos fértiles (Sorensen y Loeschcke, 2004; Parsons, 2007). Esto sugiere que el desarrollo rápido puede ser benéfico para la adecuación y que puede estar balanceado por un costo en la misma, esto es, una reducción de la viabilidad pre-adulta, adultos de tamaño pequeño, poca fecundidad y poca longevidad; sin embargo, los compromisos no han sido establecidos (Seslija y Tucic, 2003) y se sabe poco sobre las correlaciones genéticas entre tiempo de desarrollo y otros caracteres de historia de vida (Promislow y Bugbee, 2000).

Tiempo de desarrollo y longevidad en ambientes estresantes.

En una población de moscas de *D. melanogaster*, seleccionadas para ser longevas bajo condiciones de variación de temperatura y densidad poblacional, se observó una relación negativa entre el tiempo de desarrollo y la longevidad en machos, aunque no así en hembras (Yadav y Singh, 2007). Parsons (2007) considera que en un escenario estresante se puede esperar un incremento en la resistencia al estrés en adultos, cuyo efecto está relacionado con una selección para un rápido desarrollo que se traduce, a su vez, en selección para un incremento en la esperanza de vida.

Considerando lo mencionado en los párrafos anteriores, dónde se ha observado que tanto el tiempo de desarrollo como la longevidad pueden ser afectados por condiciones estresantes, cabe preguntarse si la relación entre el tiempo de desarrollo y la longevidad puede representar una adaptación en un ambiente contaminado por metales pesados. La relación entre tiempo de desarrollo y longevidad en un ambiente con presencia de estrés por metales pesados no ha sido analizada anteriormente, y en este trabajo nos preguntamos si el compromiso entre estos dos caracteres y su expresión en un ambiente contaminado es diferente entre la población proveniente de un ambiente contaminado y aquella que proviene de un ambiente no contaminado, de ser así, esperaríamos que esta

relación sea diferente entre poblaciones provenientes de ambientes contrastantes en el nivel de estrés ambiental, ya que las dos poblaciones analizadas están diferenciadas genéticamente (ver Martínez, 2016), y que dicha relación tenga una base genética.

Hipótesis

1. Si la relación entre el tiempo de desarrollo y la longevidad representa una adaptación a un ambiente estresante, esperamos que la correlación entre estos caracteres se exprese de manera diferente en una población proveniente de un ambiente contaminado con relación a su expresión en una población proveniente de un ambiente no contaminado con metales pesados.
2. Si la relación entre tiempo de desarrollo y la longevidad depende del ambiente (es plástica), ésta puede cambiar cuando los individuos cambian de ambiente.

Objetivos

1. Observar la existencia de un posible compromiso entre los caracteres de tiempo de desarrollo y longevidad en machos en moscas *Drosophila melanogaster*, provenientes de un ambiente contaminado y no contaminado por metales pesados, y sometidas a diferentes concentraciones de Zinc.
2. Analizar si la forma de este posible compromiso cambia en función del ambiente y de la población.

Métodos

Para analizar los posibles compromisos entre el tiempo de desarrollo y la longevidad en moscas provenientes de ambientes contaminados y no contaminados, analizamos las correlaciones fenotípicas y genéticas entre estos caracteres.

En la figura 2.1, se ilustra de manera general el proceso que se siguió en la obtención de poblaciones experimentales, la implementación experimental y la toma de datos, que detallaremos a continuación.

Los datos para este análisis se obtuvieron de un experimento de genética cuantitativa cuyo objetivo fue medir la varianza genética y la interacción genotipo-ambiente de dichas poblaciones. Para ello este experimento siguió un diseño de medios hermanos y de jardín común, en el que individuos provenientes de las familias de medios hermanos se sometieron a diferentes concentraciones de cloruro de zinc ($ZnCl_2$). Este experimento se realizó en conjunto con Mariana Martínez Pérez (Martínez, 2016) en el Laboratorio de Genética y Evolución de la Facultad de Ciencias en el año 2012.

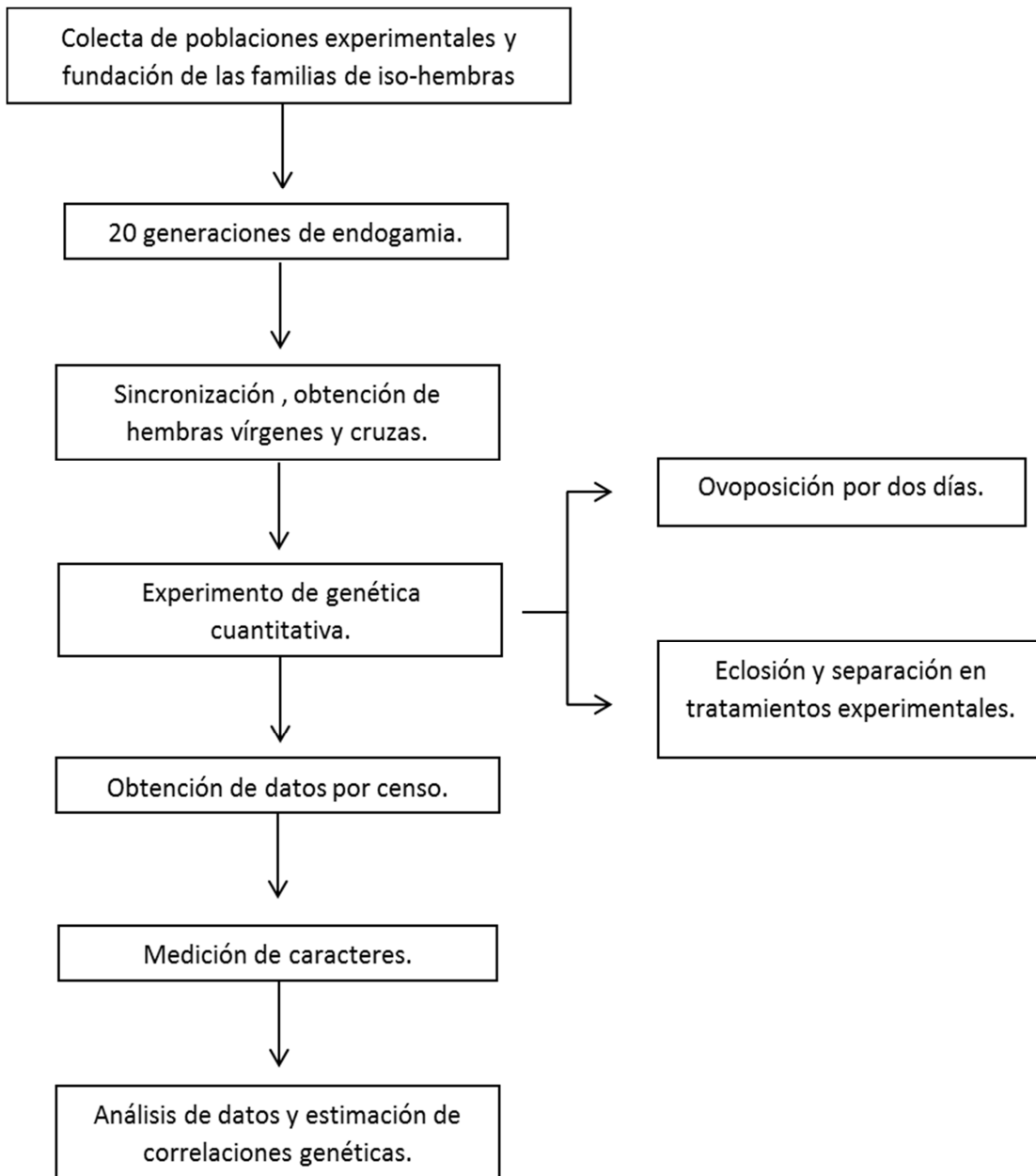


Figura 2.1 Proceso experimental, colecta y análisis de datos.

Poblaciones experimentales.

Las poblaciones se obtuvieron de una colecta de moscas silvestres de *D. melanogaster* en mayo de 2010, en Taxco de Alarcón, Guerrero, localidad con gradientes de contaminación muy variables. Los sitios de colecta fueron “la Concha” y “el Huixteco”:

“La Concha” es el área localizada al margen del río Cacalotenango, sobre los “jales” o desechos mineros, producidos por la mina cercana “La Concha”. La actividad de esta mina produjo grandes cantidades de Zn y Pb entre 1950 y 1970, por lo que se le considera un sitio contaminado por metales pesados (Arcega-Cabrera et al., 2009; Gómez-Bernal et al., 2010).

“El Huixteco” es el área decretada como área forestal vedada, alejada de la zona urbana de Taxco de Alarcón e integrada principalmente por bosque mesófilo de montaña y bosque de coníferas; por tanto, se le considera un sitio no contaminado (Martínez et al, 2004).

Con las moscas de esta colecta se formaron la población de laboratorio “C” con las moscas provenientes de “La Concha”, y la “H” con las moscas de provenientes del Huixteco. Estas localidades representan el origen contaminado y no contaminado de las poblaciones respectivamente. Cada población estaba constituida por diferentes líneas de iso-hembras. Cada línea se inició con una mosca hembra y su progenie. En total se obtuvieron 30 familias de iso-hembras de la “La Concha” y 17 familias de iso-hembras de “El Huixteco”. Todas las líneas así producidas fueron sometidas a veinte generaciones de endogamia, teniendo así familias genéticamente homocigotas.

Diseño experimental.

El diseño de genética cuantitativa utilizado para este experimento fue de medios hermanos paternos, en el que cada cruce consistió de un macho con tres hembras, a partir de las 30 familias de iso-hembras C y las 17 familias de iso-hembras H. Con este diseño y debido a que no todos los apareamientos fueron exitosos, obtuvimos 13 familias paternas para la población de origen contaminado (La Concha), 7 familias paternas de la población proveniente del ambiente no contaminado (El Huixteco). Este diseño se combinó con el de jardín común, el cual consiste en criar a la progenie de las diferentes cruces en el mismo ambiente con el fin de analizar el componente genético y ambiental de la variación fenotípica.

Para realizar las cruces, las familias de ambas poblaciones se sincronizaron para obtener hembras vírgenes. Para aumentar la probabilidad de fecundidad de las hembras, los apareamientos se realizaron de dos maneras diferentes: 1) colocando un macho y tres hembras de diferentes familias elegidas al azar en el mismo vial durante 72 horas y 2) colocando tres machos de la misma familia y tres hembras de diferentes familias, elegidas al azar, en el mismo vial también durante 72 horas. Todas las cruces se realizaron entre moscas de la misma población.

Para fomentar la ovoposición, cada hembra se colocó en un vial con medio de cultivo y levadura activada. Cada vial fue etiquetado con la población y número de familia paterna. Las hembras ovopositaron durante un día y después se colocaron en otro vial para continuar la ovoposición un segundo día.

Las larvas del segundo y tercer estadio obtenidas para cada familia se repartieron equitativamente en 6 viales con los diferentes tratamientos experimentales.

Tratamientos.

La progenie de cada familia se dividió de forma equitativa en viales con diferentes tratamientos. Cada tratamiento fue preparado con un gramo de medio Carolina y 5 ml de solución de Cloruro de Zinc (ZnCl_2). Las concentraciones de cloruro de zinc fueron: alta (10 mM ZnCl_2) y baja (5 mM ZnCl_2), en lo sucesivo, nos referiremos a este compuesto como zinc (Zn). El grupo testigo consistió en un gramo de medio Carolina preparado con 5 ml de Agua (H_2O).

Para la aplicación de los tratamientos experimentales se utilizó un diseño ortogonal o completamente cruzado, en donde las larvas obtenidas de cada familia se repartieron en dos viales para cada tratamiento, obteniendo así seis viales por familia.

Medición de caracteres de Historia de Vida.

Los caracteres considerados en este análisis son tiempo de desarrollo y longevidad, y se midieron de la manera expuesta a continuación.

Tiempo de desarrollo

Los viales en los que las larvas fueron sometidas a los diferentes tratamientos se mantuvieron en constante observación y cada día se registró el número de moscas que emergían. Debido a la disminución de moscas que emergían cada día, la frecuencia del registro de emergencia se espació a cada tres días y, finalmente, a cada semana. Cada día de observación, las moscas emergidas en cada vial fueron registradas, extraídas y colocadas en otro vial por separado, lo que nos permitió registrar la emergencia de moscas para cada familia en los días siguientes. Al momento de la emergencia se separaron las hembras y los machos para evitar apareamientos. El registro diario del

número de moscas emergidas en cada vial permitió estimar el tiempo de desarrollo promedio en días, por familia. El tiempo de desarrollo promedio para cada familia se estimó como el promedio de los días transcurridos entre el día en que las larvas se sometieron al tratamiento experimental y el día en que cada mosca emergió.

Longevidad

Las hembras y machos de cada familia se mantuvieron separados en viales experimentales a partir de su emergencia hasta su muerte y cada vial se censó periódicamente durante 133 días, que fue cuando se registró la longevidad máxima. La longevidad promedio para cada familia se estimó como el número de días promedio que transcurrieron entre el día de emergencia de cada mosca y el día de muerte de las moscas en cada vial.

Análisis fenotípico

La relación fenotípica entre el tiempo de desarrollo y la longevidad en machos se analizó mediante un análisis de covarianza por medio de un modelo lineal mixto. En este modelo se declaró a la longevidad como variable dependiente, al tiempo de desarrollo como covariable y las poblaciones de proveniencia de las familias y los tratamientos experimentales se introdujeron como efectos fijos. Los datos familiares como el padre y la madre se incluyeron como efectos aleatorios, únicamente para tomar en cuenta la correlación entre los datos debida a la estructura familiar. Ya que las variables de interés eran continuas, el modelo se comportó como una regresión y permitió analizar la relación entre el tiempo de desarrollo y la longevidad para cada población, tratamiento y combinación de éstas dos

El modelo fue:

(1)

$$\begin{aligned} \textit{Longevidad} = & \textit{Temergen} + \textit{pob} + \textit{conc} + \textit{conc} * \textit{pob} + \textit{Temergen} * \textit{pob} \\ & + \textit{Temergen} * \textit{conc} + \textit{conc} * \textit{pob} * \textit{Temergen} + \textit{padre} + \textit{madre} \\ & + \textit{tipo de apareamiento} + \textit{día} \end{aligned}$$

Donde *Temergen* es el tiempo de desarrollo; *conc* es la concentración de Zn; *conc*pob* es la interacción entre concentración y las poblaciones; *Temergen* conc* es la interacción entre el tiempo de desarrollo y la concentración de Zn; y *conc*pob*Temergen* es la interacción entre la concentración, las poblaciones y el tiempo de desarrollo. El tipo de apareamiento (una hembra y dos machos; y una hembra con un macho) y día de ovoposición (primer o segundo día después del apareamiento) se incluyeron como artefactos experimentales.

El análisis de este modelo se llevó a cabo en el paquete estadístico JMP[®] versión 13.0 (SAS Institute, 2016).

Análisis genético

Para analizar si estos caracteres presentaban un compromiso genético se analizó su correlación genética. La correlación fenotípica se puede descomponer en la correlación genética y la correlación ambiental de la siguiente manera:

(2)

$$\rho_F = \rho_G + \rho_E$$

Donde, ρ_F es la correlación fenotípica, ρ_G es la correlación genética y ρ_E es la correlación ambiental. Esto indica que la correlación fenotípica entre dos caracteres depende de la correlación genética más la correlación ambiental.

La correlación fenotípica total se estima como:

(3)

$$\rho_f = \frac{\sigma_f(1,2)}{\sigma_f(1) \cdot \sigma_f(2)}$$

Donde $\sigma_f(1,2)$ es la covarianza de los caracteres 1 y 2 en el mismo individuo $\sigma_f(1)$ es la desviación estándar del carácter 1 y $\sigma_f(2)$ es la desviación estándar del carácter 2 (Lynch y Walsh, 1998).

La correlación genética para el diseño de medios hermanos se estimó como:

(4)

$$\rho_A = \frac{Cov(s_1, s_2)}{\sqrt{Var(s_1)Var(s_2)}}$$

Donde $Cov(s_1, s_2)$ es el componente paterno de la covarianza del carácter 1 y el carácter 2, $Var(s_1)$ es el componente paterno de la varianza del carácter 1 y $Var(2)$ es el componente paterno de la varianza del carácter 2.

Para el análisis de correlación genética se intentó realizar un modelo completo, es decir, considerando ambas poblaciones y todos los tratamientos experimentales como fuente de variación, pero debido a que el tamaño de muestra no era lo suficientemente grande, no se contó con los grados de libertad necesarios para llevarlo a cabo. Por lo tanto,

procedimos a realizar el análisis con un modelo para cada grupo de población y concentración por separado. La correlación genética entre estos caracteres se analizó mediante modelos lineales mixtos con el programa estadístico SAS[®] 9.0 (2002). Para esto seguimos el procedimiento propuesto por Fry (2004) para análisis del diseño experimental de medios hermanos, utilizando modelos mixtos (PROC MIXED).

Este modelo considera la relación entre los componentes causales y observacionales de la variación de la siguiente manera:

Para la covarianza aditiva entre los dos caracteres:

(5)

$$COV_A = 4\sigma_{S1,2}$$

Dónde, COV_A es la covarianza genética aditiva, y $\sigma_{S1,2}$ denota la covarianza paterna entre el carácter 1 y el carácter 2.

Para la covarianza materna:

(6)

$$COV_M = 4\sigma_{D1,2} - 4\sigma_{S1,2}$$

Donde, COV_M es la covarianza materna; $\sigma_{D1,2}$ denota la covarianza materna entre el carácter 1 y el carácter 2; y $\sigma_{S1,2}$ denota la covarianza paterna entre el primer carácter y el segundo carácter.

Para la covarianza ambiental:

(7)

$$COV_E = 4\sigma_{W1,2} - 4\sigma_{S1,2}$$

Donde, COV_E es la covarianza ambiental y $\sigma_{w_{1,2}}$ denota la covarianza de los efectos aleatorios entre el carácter 1 y el carácter 2.

Entonces, la correlación genética aditiva entre caracteres se estima como:

(8)

$$\rho_A = \frac{COV_A}{(V_{A1}V_{A2})^{1/2}}$$

Donde COV_A es la covarianza aditiva; V_{A1} es la varianza aditiva del primer carácter y V_{A2} es la varianza aditiva del segundo carácter.

El modelo estadístico fue:

(9)

$$\text{Valor fenotípico} = \text{caracteres} + \text{padre} + \text{madre} + \text{individuo} + \text{error}$$

Donde *caracteres* representa una variable categórica de los caracteres de historia de vida (longevidad y tiempo de desarrollo), *padre* es la aportación paterna, *madre* la aportación materna, *individuo* es el valor que aporta cada individuo de la población y *error* es el margen de error estadístico, que dan como resultado el valor fenotípico, es decir, el valor medido de cada carácter. Por último, *caracteres* fue considerado un efecto fijo; mientras que *padre* y *madre*, efectos aleatorios. “Declarar los caracteres como efectos fijos permite que el modelo adjudique dos medias diferentes para los dos caracteres analizados, y que genere dos matrices de covariación, una para la covariación por efectos paternos y otra para la covariación por efectos maternos” (Fry, 2004). Los renglones y columnas de cada matriz corresponden a los dos niveles de carácter del modelo (por ejemplo: longevidad y fecundidad), las matrices generadas tienen la forma siguiente (Fry, 2004):

(10)

$$\begin{bmatrix} \sigma_{S1}^2 & \sigma_{S1,2} \\ \sigma_{S2,1} & \sigma_{S2}^2 \end{bmatrix}$$

Los valores de covarianza por efectos paternos y maternos son extraídos de estas matrices para hacer la estimación de la covariación genética aditiva y covariación por efectos maternos respectivamente (Fry, 2004). La estimación de la correlación genética se hizo como se mencionó anteriormente en la ecuación 8.

La significancia de la correlación se hizo considerando la hipótesis nula: covariación genética = 0, para esto se hizo un modelo reducido, pero igualando el valor de la correlación a cero. Se obtuvo la diferencia del valor de -2 res-log likelihood de ambos modelos y este valor se comparó con el valor de X^2 de tablas con grados de libertad igual al número de parámetros originales en el modelo menos uno. Este es el mismo método propuesto por Fry (2004).

Los análisis de covarianza se realizaron sólo con los datos transformados de tiempo de desarrollo promedio, usando la función inversa, esto porque dicha transformación favoreció la convergencia en los análisis, ya que el criterio de convergencia de Mixed requería un número mayor de iteraciones. La población de origen no contaminado, en concentración de tratamiento 0 mM no pudo ser analizada completamente, debido a que no hubo convergencia en el análisis del modelo; por esa razón, en los resultados sobre el análisis de correlación genética, se presentarán sólo los resultados donde se completó el análisis.

Resultados

Análisis de covariación del tiempo de desarrollo y longevidad en machos

La relación entre el tiempo de desarrollo y la longevidad en machos fue significativa y negativa, al considerar las dos poblaciones juntas (Cuadro 2.1). Esta relación fue similar entre ambas poblaciones al considerarlas por separado, como indica la interacción no significativa entre población y el tiempo de desarrollo (Cuadro 2.1). Aquellas familias que maduraron más tempranamente presentaron mayor longevidad en machos y en aquellas cuya maduración fue tardía la longevidad disminuyó (Figura 2.2A).

La relación entre estos dos caracteres fue diferente entre los tratamientos experimentales (cuadro 2.1). El tratamiento control presentó una pendiente negativa, en donde la longevidad de machos disminuye a medida que aumenta el tiempo de desarrollo, en la concentración baja. La pendiente también fue negativa, pero menos marcada, en el tratamiento de concentración media. Mientras que en el tratamiento de concentración alta la relación se invirtió, la longevidad aumenta con el tiempo de desarrollo (Figura 2.2B).

La interacción entre población, concentración y tiempo de desarrollo no fue significativa (Cuadro 2.1), es decir, que las poblaciones presentaron la misma relación entre el tiempo de desarrollo y la longevidad de machos al interior de los tratamientos experimentales.

Cuadro 2.1. Resultados del análisis de covariación entre tiempo de desarrollo y longevidad tomando en cuenta la población de origen de las moscas y la concentración de los tratamientos experimentales . La variable dependiente es la longevidad. Los valores corresponden a la F del análisis de ANOVA tipo 3. Los grados de libertad se presentan entre paréntesis y los diferentes niveles de significancia son: 0.1 +, 0.05 *, 0.005 **, 0.0001 ***

	F	Probabilidad
Tiempo de desarrollo	15.0109 _(1,336.2)	0.0001
Población	0.4982 _(1,61.53)	0.4829
Concentración	35.4021 _(2,313.2)	<.0001
Concentración *Población	4.1286 _(2,313.2)	0.0170
Tiempo de desarrollo *Población	0.4931 _(1,336.2)	0.4830
Tiempo de desarrollo *Concentración	3.4789 _(2,326.9)	0.0320
Concentración *Población *Tiempo de desarrollo	2.2074 _(2,326.9)	0.1116

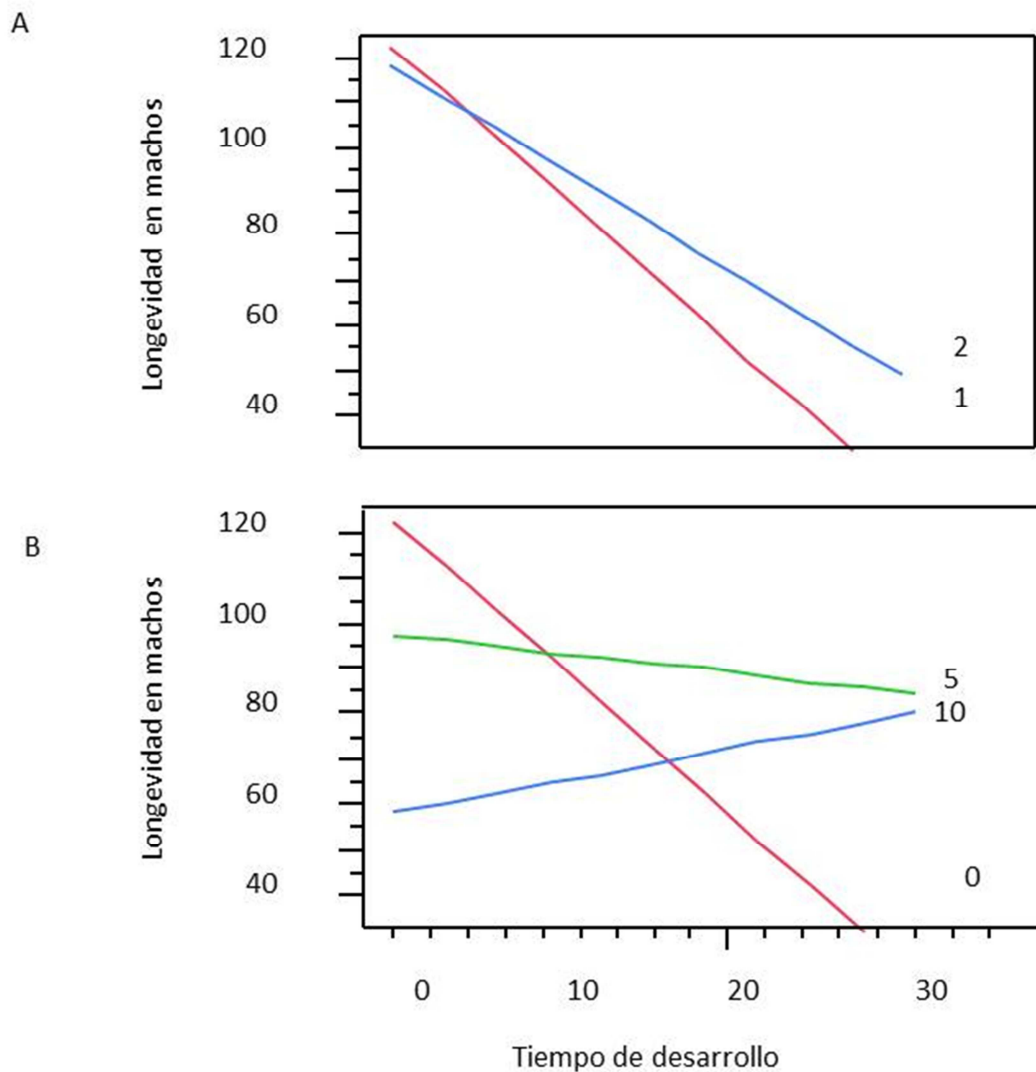


Figura 2.2. Comportamiento de la relación entre longevidad en machos y tiempo de desarrollo predicho por el modelo. A) Relación de la longevidad en machos y el tiempo de desarrollo en cada una de las poblaciones experimentales y B) Relación de la longevidad en machos y el tiempo de desarrollo para cada uno de los tratamientos experimentales 0 mM Zn, 5 mM Zn y 10 mM Zn.

Correlación genética entre tiempo de desarrollo y longevidad en machos

La población de origen no contaminado no mostró una correlación genética entre tiempo de desarrollo y longevidad en machos en ninguno de los tratamientos experimentales (Cuadro 2.2), pero sí mostró una correlación ambiental negativa y significativa (Cuadro 2.2); así como efectos maternos negativos y significativos en el tratamiento de concentración alta (Cuadro 2.2), lo que pone en evidencia un compromiso determinado ambientalmente y por efectos maternos en una alta concentración de zinc.

No pudo calcularse la correlación genética para la población de origen contaminado en el tratamiento 10 mM Zn debido a que uno de los caracteres presentó varianza cero (Cuadro 2.3). Para el resto de los tratamientos, la población de origen contaminado no mostró ninguna correlación genética entre tiempo de desarrollo y longevidad en machos, y tampoco mostró alguna correlación ambiental o por efectos maternos en ninguno de los tratamientos experimentales (Cuadro 2).

Cuadro 2.2. Estimación de correlaciones genética, ambiental y por efectos maternos en el tiempo de maduración y la longevidad en machos. NC son las correlaciones que no convergieron. NE son las correlaciones no estimadas. Los diferentes niveles de significancia son: 0.1 +, 0.05 *, 0.005 **, 0.0001 ***

Origen de la población	[ClZn mM]	Correlación genética	Correlación ambiental	Efectos maternos
	0	NC	NC	NC
No contaminado				
	5	-0.962512863	0.029526	1.88906323
	10	-0.48472344	-0.047374736**	-0.048878188**
	0	-1.834051813	-0.211681804	2.78378822
Contaminado				
	5	1.249880985	-0.290630825	NE
	10	NE	-0.017808736	-0.010733152

Cuadro 2.3. Varianza genética (VG), ambiental (VE) y por efectos maternos (VM) en tiempo de desarrollo y longevidad en machos . NC son las varianzas que no convergieron. Los diferentes niveles de significancia son: 0.1 +, 0.05 *, 0.005 **, 0.0001 ***

Origen de la población	[ClZn mM]	Tiempo de desarrollo			Longevidad en machos		
		VG	VE	VM	VG	VE	VM
No contaminado	0	NC	NC	NC	NC	NC	NC
	5	78.7124	311.2638	-19.6781	2.7552	1.8223	-0.6888
	10	533.12	266.8	-126.155	5.8092	0.218	-1.4523
Contaminado	0	107.086	663.287	-26.7715	0.8008	1.4357	-0.112317
	5	179.7532	251.7834	95.0117	1.5272	3.7108	-0.3818
	10	0	668.46	62.8569	0.23152	2.40534	668.40212

Discusión

A nivel general, observamos una correlación fenotípica negativa entre el tiempo de desarrollo y la longevidad en machos que es similar en ambas poblaciones (Cuadro 2). Esta relación fenotípica puede representar un compromiso si el tiempo o la energía asignada para la maduración es un recurso y las moscas que invierten más tiempo o energía en la maduración pagan un costo con un tiempo de vida reducido; mientras que aquellas con un desarrollo rápido tienen una mayor longevidad. Esta relación negativa se mantuvo en el ambiente libre o con baja concentración de zinc, mientras que en el ambiente con alta concentración de Zinc la relación entre estos caracteres se volvió positiva. De acuerdo con la hipótesis planteada al inicio del capítulo esperábamos que el comportamiento de la relación entre estos caracteres fuera diferente entre las poblaciones, si esta relación representa una adaptación a un ambiente contaminado; sin embargo, en ambas poblaciones la relación entre estos caracteres presentó el mismo comportamiento, al menos a nivel fenotípico.

En el análisis genético sólo detectamos una correlación ambiental negativa y significativa entre estos caracteres en la población de origen no contaminado en el ambiente con alta concentración de zinc, lo que indica que la relación entre la longevidad y el tiempo de desarrollo podría ser plástica en esta población y puede explicar el cambio de dirección de la relación observada en el análisis fenotípico en el tratamiento de 10 mM de concentración de Zn.

Una correlación negativa entre el tiempo de desarrollo y la longevidad, en ambientes con nula o poca presencia de zinc, también podría interpretarse como la relación entre un crecimiento acelerado y la longevidad, donde las moscas que maduran más rápido tienen más longevidad, y las que se desarrollan menos rápido tienen menos longevidad. Si este fuera el caso, lo que en apariencia es un compromiso, en la realidad no lo es. Sevenster y Alphen (1993) mencionan que un periodo de desarrollo corto y una larga vida adulta es común en *Drosophila* en ambientes naturales; Sorensen y Loeschcke (2004), y Parsons

(2007) mencionan que el desarrollo rápido puede ser adaptativo y favorecer a otros caracteres de historia de vida como son la longevidad o la alta sobrevivencia de los adultos. Pero en nuestro caso, la metodología utilizada para este estudio no nos permite hablar de la velocidad del desarrollo, y dicho planteamiento tendría que comprobarse con otros experimentos.

Una correlación negativa entre tiempo de desarrollo y longevidad, como la que nosotros encontramos, se ha observado en poblaciones naturales de *Drosophila simulans* seleccionadas para tener un tiempo de desarrollo corto o largo desde la eclosión hasta la edad adulta (Promislow y Bugbee, 2000); esto, también, se ha observado en mariposas (Pijpe et al., 2006 en Pankaj y Sharma, 2014). Además, en el modelo estándar que se había propuesto por Rose en el año 2004, a través de una recopilación de estudios de evolución experimental para *Drosophila*, la relación entre la longevidad y el desarrollo es negativa (Rose et al., 2005). Es por ello que podríamos esperar que nuestros resultados arrojaran precisamente una relación negativa. Sin embargo, en estudios con *Drosophila*, también se ha observado una correlación positiva entre estos caracteres de manera similar a lo que observamos en el ambiente con mayor presencia de zinc. En el caso de *D. melanogaster*, en condiciones libres de estrés ambiental, se ha reportado una correlación positiva entre estos caracteres (Sevenster y Alphen, 1993; Pankaj y Sherma, 2014; Chippindale et al., 2004), así como en ambientes con estrés ambiental, como de restricción calórica (limitación en la cantidad de alimento disponible) y de temperaturas altas y bajas, tanto en *D. melanogaster*, *D. ananassae* y *D. buzzatii* (Sorensen y Loeschcke, 2004; Norry y Loeschcke, 2002; Yadav y Singh, 2007; Scannapieco et al. 2009). Esta relación positiva también se ha observado en otros insectos, como la mosca del melón en líneas longevas (Miyatake, 1997), en avispas parasitas de *Drosophila* en condiciones de restricción calórica (Seyahoei et al. 2001) y en individuos del coleóptero *Acanthoscelides obtecus* seleccionados para desarrollarse lentamente, sin condiciones de estrés (Seslija y Tucic, 2002).

La relación negativa observada en el análisis fenotípico en ambientes con nula o poca presencia de Zinc, contradice la hipótesis del envejecimiento por pleiotropía antagónica, la

cual predice una correlación positiva, donde un rápido desarrollo está correlacionado con un rápido envejecimiento (Promislow y Bugbee, 2000; Patridge y Andrews, 1985; Wang et al. 2001; Edward y Chapman, 2013; Hunt et al. 2006). Esta relación negativa puede deberse, como ya mencionamos antes, a que el desarrollo rápido es adaptativo y que las moscas resultan ser más longevas cuando no se reproducen (Sorensen y Loeschcke, 2004; Parsons, 2007). El cambio de dirección de la correlación en el ambiente con mayor presencia de zinc puede deberse a que los caracteres son plásticos (Martínez, 2016) y un cambio en alguno de ellos puede modificar la correlación. De acuerdo con Martínez (2016), las moscas de origen contaminado presentaron maladaptación por una menor longevidad en el ambiente contaminado, entonces una relación positiva entre estos caracteres podría indicar que aquellas moscas con mejor condición (más longevas) estén más presentes en el ambiente contaminado independientemente de su tiempo de desarrollo, lo que puede resultar en el cambio del signo de la correlación.

Un cambio en la dirección de la relación entre dos caracteres, de negativo a positivo, se ha observado antes por Rose (1984a y 1984b), quien estudió la correlación genética entre longevidad y reproducción temprana, la cual se volvió positiva al paso de las generaciones. Rose interpretó este cambio como un reflejo de la depresión endogámica, al usar líneas de moscas endogámicas. En nuestro caso, el análisis genético no arroja una correlación genética negativa, sino un cambio provocado por influencia de las condiciones ambientales, lo que indica que se trata de una relación plástica. Esto también coincide con otras observaciones de cambio de dirección de una correlación entre otros caracteres de Historia de Vida, dependiendo del ambiente, por ejemplo, por cambios en la disponibilidad de alimentos (Messina y Fry, 2003), en la cantidad de apareamientos (Patridge y Andrews, 1985), en la temperatura (Norry y Loeschcke, 2002) o por desecación (Archer et al. 2003). Se ha observado, además, que la relación no sólo cambia, sino que se pierde (Hoffman et al. 2001, Leroi et al., 1994 a), o se pierde y regresa bajo las condiciones ambientales apropiadas (Leroi et al. 1994 b). Las posibles causas son numerosas, pero en nuestro caso, y ya que la mayoría de los caracteres de estas poblaciones presentaron plasticidad (Martínez, 2016); proponemos, que el cambio en la relación depende

principalmente del ambiente, aunque no pudimos determinar si esta relación tiene un componente genético y, por lo tanto, potencial evolutivo.

Pankaj y Sharma (2014) mencionan que para establecer la existencia de un compromiso de historia de vida es necesario evaluar la relación a nivel fenotípico y genético. Nuestros resultados sugieren la existencia de una relación plástica, pero, debido a las limitaciones del análisis genético, no podemos determinar si este compromiso es adaptativo, heredable o si puede evolucionar. Una de las razones por las que no se detectó una correlación genética, podría ser debido al tamaño pequeño de la muestra o bien, a que esta correlación no exista y que otras interacciones estén influyendo en el comportamiento del tiempo de desarrollo y la longevidad, tales como la epítasis, dominancia y efectos maternos (Seslija y Tucic, 2002). También es probable que las condiciones ambientales afecten más a uno de los caracteres y que esto intervenga en la expresión de la correlación entre ambos caracteres. Esto último podría ser, ya que se ha observado que la longevidad de *Drosophila* aumenta bajo condiciones estresantes (Sorensen y Loeschcke, 2004; Scannapieco et al., 2009; Yadav y Singh, 2007; Marshall y Sinclair, 2010; Ballard et al. 2008; Shirley y Sibly, 2001). Yadav y Singh (2007) mencionan que el tiempo de desarrollo, también, es afectado por las condiciones ambientales y/o experimentales; un ejemplo concreto, lo encontramos en el estudio de Shirley y Sibly (1999), quienes encontraron que el tiempo de desarrollo se aceleró en moscas seleccionadas para ser resistentes a metales pesados. Esto también se ha observado en otros organismos; por ejemplo, la disponibilidad de carbohidratos en avispas determinó la esperanza de vida, pero no afectó el tiempo de desarrollo (Seyahooei et al., 2011); en coleópteros, la cantidad de lípidos influyó en el tiempo de desarrollo, pero no en la longevidad (Seslija y Tucic, 2002). Es probable, entonces, que la relación entre estos caracteres no sea directa, y que dependiendo de los factores estresantes observemos un comportamiento distinto de la relación.

Finalmente, también encontramos, en la población de origen no contaminado, una correlación por efectos maternos entre estos caracteres, lo que evidencia una contribución parental en esta relación, ya sea por la cantidad de nutrientes destinados al

huevo como en la elección del lugar de puesta de éstos (Vermulen et al, 2006; Borash y Ho, 2001). Pero, el cómo los efectos maternos influyen directamente sobre los caracteres de historia de vida, aún no se ha esclarecido (Seslija y Tucic, 2002).

Todo lo anterior nos permite bosquejar lo complicado que es definir el compromiso entre tiempo de desarrollo y longevidad, porque el desarrollo puede implicar varios estados del ciclo de vida (Chippindale, 1996); y no sabemos qué elementos del desarrollo influyen más sobre la longevidad (Promislow y Bugbee, 2000). Esto incluye a las vías metabólicas subyacentes y a la arquitectura genética de las poblaciones (Pankaj y Sharma, 2014). También, como ya mencionamos, las condiciones de laboratorio pueden intervenir, así como la manera en la que caracterizamos los caracteres de historia de vida (Sevenster y Alpehn, 1993; Promislow y Bugbee, 2000; Rose, 2005).

En conclusión, ya que el compromiso entre el tiempo de desarrollo y la longevidad en machos se presenta en la población más cercana al estado silvestre, que es la de origen no contaminado, inferimos que ésta es la relación que ocurre normalmente; y ya que también se presenta en la población de origen contaminado consideramos que, no es un compromiso donde se refleje un costo por la tolerancia al zinc ya que no se comportó de manera diferente a la población de origen contaminado.

Capítulo 3

Análisis de la relación entre fecundidad y los caracteres de historia de vida: longevidad en machos, sobrevivencia a la edad adulta y tiempo de desarrollo, bajo condiciones de estrés ambiental por metales pesados

Introducción

En el capítulo uno describimos cómo la adecuación está integrada por el desempeño reproductivo de los organismos y otros caracteres de historia de vida como la sobrevivencia (Braendle et al., 2011); y que, si la evolución de los caracteres de historia de vida tiende a maximizar la adecuación, podríamos esperar cada vez una mayor fecundidad (Roff, 2002), una vida más larga y una maduración más temprana en los organismos (Stearns 1992). Sin embargo, estos caracteres se encuentran limitados por varias restricciones (*constrains*) y compromisos (*trade offs*) (Stearns, 1992; Futuyma, 2013; Roff, 2002; Edward y Chapman, 2011). Dentro de los compromisos, los que incluyen a la reproducción tienen gran importancia por ser ésta uno de los principales componentes de la adecuación (Stearns, 1992). Es por ello que, en este capítulo, analizaremos la relación entre la fecundidad, como una medida de la reproducción, y otros caracteres de las historias de vida, a saber: la sobrevivencia a la edad adulta, el tiempo de desarrollo y la longevidad y cómo estas relaciones se modifican cuando sumamos a los costos de reproducción, aquellos costos que involucra la tolerancia a metales pesados (Zn).

Costos de la reproducción

Los costos de reproducción son de fundamental importancia en la evolución de las historias de vida (Harshman y Zera, 2006). En teoría, la selección natural tiende a maximizar el valor reproductivo de un organismo a una cierta edad, lo que produce un compromiso entre el crecimiento y la reproducción (Stearns, 1992). La Teoría de evolución de historias vida propone que la reproducción conlleva un costo en términos de crecimiento, sobrevivencia y/o fecundidad futura (Roff, 2002), por lo tanto, la evolución de una historia de vida está limitada por costos o compromisos en la reproducción (*reproductive trade-offs* en inglés), como pueden ser entre la actividad reproductiva y la longevidad (Edward y Chapman, 2011; Flatt, 2011). De esta manera los costos de reproducción están fuertemente ligados al parámetro *Malthusiano r* a nivel poblacional (Edward y Chapman, 2011), mencionado en el capítulo uno como una medida de la adecuación.

Los costos de la reproducción pueden ser consecuencia de factores ecológicos y fisiológicos, o estar sujetos a un grupo particular de condiciones. Es por ello que estos costos pueden ser más evidentes en condiciones de estrés o presentarse, incluso, sin que los organismos estén bajo algún estrés fisiológico (Roff, 2002; Flatt, 2011). Ejemplos de costos de reproducción pueden ser el retraso en la maduración y la reproducción futura; que la competencia y búsqueda de apareamientos aumente la vulnerabilidad a depredadores; y otros costos fisiológicos que reduzcan la esperanza de vida (Futuyma, 2013; Roff, 2002). A través de una revisión realizada por Reznick (1985; en Roff, 2002), se cuentan al menos 49 costos de reproducción en diferentes estudios. Por su parte, Stearns (1992) menciona que los costos de la reproducción pueden tomar dos formas:

1. Un incremento en la reproducción actual influye negativamente sobre la probabilidad de sobrevivencia.
2. Un incremento en la reproducción actual influye negativamente sobre el valor reproductivo de la siguiente clase reproductiva; o sobre ambos.

Esto coloca al compromiso entre la longevidad y la reproducción como el principal ejemplo de costos de reproducción (Harshman y Zera, 2006; Flatt, 2011; Roff, 2002; Edward y Chapman, 2011). Este compromiso puede ser causado por la asignación competitiva de recursos limitados para dichos caracteres, es decir, por la llamada *pleiotropía antagónica*, considerada la principal hipótesis explicativa de los compromisos de historia de vida (Flatt, 2011). Es importante recordar que, si bien los costos de reproducción son un tipo de compromiso, no todas las correlaciones negativas que se han observado son resultado de éstos, éstas también pueden deberse a la selección en diferente dirección sobre dos caracteres distintos (Stearns, 1992).

Los costos de reproducción, según Roff (2002) pueden dividirse en tres categorías por sus efectos: en el crecimiento, en la sobrevivencia y en la fecundidad futura. Pero para efectos del presente trabajo, nos enfocaremos en la división propuesta por Edward y Chapman (2011), quienes los clasifican como:

1. Fisiológicos: ocurren en los individuos y son respuestas plásticas a la disposición de recursos. Es decir, que su expresión cambia dependiendo del ambiente. Por ejemplo, en *D. melanogaster* su actividad reproductiva está estrechamente ligada a los niveles de disposición de recursos externos.
2. Evolutivos: estos revelan la existencia de estrategias diferentes entre los individuos de una población. Es decir, que estos costos tienen una base genética y que pueden responder a la selección.

Roff (2002) propone que para detectar un compromiso de la reproducción es importante, no sólo establecer la existencia de una correlación negativa o positiva entre los caracteres, sino también determinar el mecanismo responsable. Es por ello que, en los últimos años, la investigación respecto a los costos de reproducción se ha enfocado en los diferentes mecanismos subyacentes que los acompañan. Algunos de estos mecanismos son (Harshman y Zera, 2006; Edward y Chapman, 2011): La regulación hormonal, tales como la insulina o la hormona juvenil; intermediarios metabólicos y la asignación de recursos; la función inmune; proteínas en el fluido seminal de los machos (como en el caso

de *Drosophila melanogaster*); y la defensa contra el estrés y la toxicidad; todos estos detallados en el primer capítulo del presente trabajo.

Costos de la tolerancia

En el capítulo uno hicimos hincapié en dos posibles causas de la tolerancia: la aclimatización y la adaptación. Siendo ésta última de nuestro especial interés, puesto que, en condiciones de estrés, la tolerancia puede involucrar costos en la adecuación. Esto es, los organismos tolerantes tienen genes que les confieren resistencia en presencia del estrés y la expresión de estos genes puede representar un costo en términos de adecuación en ausencia del agente estresante (Harper et al, 1997). Animales tolerantes, expuestos a factores estresantes movilizan recursos para procesos de reparación y de defensa, lo que provoca una demanda de energía que, a su vez, puede tener consecuencias negativas en la adecuación (Morgan et al. 2007). Por ejemplo, en *Drosophila*, bajo condiciones de estrés por inanición, se ha observado que aquellas que son resistentes presentan menor viabilidad (Chippindale et al. 1996). Otro efecto negativo de la tolerancia se ha observado en una disminución en la longevidad frente a la desecación (Gasser et al. 2000), al estrés oxidante (Wang et al., 2001) y a la inanición (Leroi et al. 1993).

De acuerdo con Harper et al. (1997), en el caso de los metales pesados, existen dos teorías que pretenden explicar los costos de la tolerancia en los organismos.

1. La hipótesis de compromisos (*The trade-off hypothesis*): donde la habilidad fisiológica de tolerar los niveles de toxinas puede ser caro en términos de energía u otros recursos, lo cual repercute en otros caracteres de historia de vida, como el crecimiento y la reproducción (Harper et al, 1997; Harshman y Zera, 2006; Morgan et al., 2007). Por ejemplo, en los escarabajos *Poecilus cupreus* la fecundidad se ve

disminuida al estar expuestos a medio contaminado con Zinc (Kramarz y Laskowski, 1997).

2. La hipótesis de requerimiento de metales (*The metal requirement hypothesis*): donde, debido a los diferentes mecanismos de tolerancia de los organismos, aquellos que son tolerantes se vuelven menos eficientes en la utilización de los metales esenciales y presentan una deficiencia en ausencia de ellos (Harper et al, 1997; Morgan et al., 2007).

De acuerdo con el apartado anterior, dado que la tolerancia puede implicar costos en la reproducción y ésta a su vez incurre en costos en otros caracteres de historias de vida, en condiciones de estrés podemos esperar que los compromisos entre la fecundidad y el resto de los caracteres de historia de vida sean más marcados o alterados. Nuestro estudio incluye un factor estresante (Zn) que puede estar infringiendo costos de la tolerancia adicionales a los costos de la reproducción o viceversa, que estos últimos limiten los recursos para la tolerancia. Basándonos en esto, en este trabajo proponemos que, si la tolerancia afecta a la adecuación, esta también podría afectar la forma en la que la fecundidad se relaciona con otros caracteres, lo cual únicamente se evidenciaría comparando el comportamiento de organismos tolerantes con el de los no tolerantes bajo las mismas condiciones de estrés.

Para probar esta hipótesis, analizaremos los posibles compromisos reproductivos que pueden o no manifestarse en dos poblaciones provenientes de ambientes contrastantes, en presencia de un ambiente contaminado por metales pesados.

Compromisos entre la fecundidad y otros caracteres de historia de vida en presencia de metales pesados.

Los estudios de poblaciones en ambientes contaminados con metales pesados se han enfocado, hasta ahora, en cómo éstos pueden afectar o no el desempeño de los caracteres de Historia de Vida. En poblaciones de *D. melanogaster* con líneas resistentes y susceptibles a cadmio, Shirely y Sibly (1999) encontraron que los organismos resistentes emergían más tempranamente que las susceptibles en un ambiente contaminado y que, además, tenían mejor adecuación. Otro ejemplo, en presencia de cadmio, es el de la araña *Pirata piraticus* en el que hembras provenientes de un ambiente contaminado ponían huevos más grandes que aquellas que no (Hendrickx et al. 2007); o en el escarabajo *Poecilus cupreus* que, en presencia de Zn, presenta una fecundidad baja (Kramarz y Laskowski, 1997). Todos ellos, ejemplos de cómo los caracteres de historia de vida expuestos pueden ajustarse en respuesta a determinado ambiente, pero no de cómo es que éstos caracteres interactúan entre sí, bajo esas condiciones. Por ello, en este estudio analizaremos como es que la fecundidad interactúa con otros caracteres de historia de vida (la sobrevivencia a la edad adulta, el tiempo de desarrollo y la longevidad) y como es que su interacción se modifica frente a costos de reproducción y costos de la tolerancia.

Hipótesis

Resumiendo lo mencionado en la introducción tenemos que la reproducción y la tolerancia al estrés (en este caso por metales pesados) son costosas, por lo tanto, las asociaciones de la fecundidad, como medida de la reproducción, con otros caracteres de historia de vida pueden verse afectadas, si los organismos pagan costos de la tolerancia o costos a la reproducción en un ambiente estresante. Tomando en cuenta que la expresión de los compromisos depende de diversos factores (Rose, 2005; Morgan et al. 2007 y Harshman y Zera, 2007, ver detalles en capítulo uno), en este estudio analizaremos la

expresión de los posibles compromisos entre la fecundidad y otros caracteres de historias de vida en la población de origen contaminado en relación a lo expresado por la población proveniente de un ambiente normal, la cual tomaremos como control. Es necesario considerar que ambas poblaciones se mantuvieron bajo las mismas condiciones ambientales durante 20 generaciones de endogamia, y dado que ambas poblaciones provienen de ambientes diferentes y poseen un trasfondo genético diferente (Martinez, 2016); esperamos que, después de dichas 20 generaciones de endogamia, las poblaciones expresen diferencias en los costos de tolerancia a los metales pesados y, por lo tanto, en los compromisos de historia de vida que aquí se analizan.

Todo lo anterior nos permite plantear las siguientes hipótesis generales:

1. Si la tolerancia a un ambiente estresante involucra una relación entre fecundidad y otros caracteres de historia de vida, esperamos que la expresión de esta relación sea diferente a lo observado en la población proveniente de un ambiente normal en las mismas condiciones ambientales.
2. Si la expresión de los compromisos entre la fecundidad y otros caracteres de historia de vida depende de la presencia de agentes estresantes, esperamos que esta relación sea diferente en las poblaciones cuando se sometan a diferentes concentraciones del contaminante.
3. Finalmente, si la expresión de los compromisos entre la fecundidad y otros caracteres de historia de vida son adaptativos, esperamos que ambos caracteres presenten una correlación genética.

De las cuales se desprenden las siguientes predicciones:

1. Si la tolerancia tiene costos en la fecundidad y en otros caracteres, podemos esperar una correlación positiva entre ellos, ya que ambos caracteres disminuirán su valor fenotípico

2. Si en condiciones de estrés los costos de reproducción son mayores, pueden causar o acentuar un compromiso (correlación genética negativa) entre la fecundidad y los otros caracteres.

Objetivos

1. Analizar la relación fenotípica y genética, entre la fecundidad y los otros caracteres de historia de vida (tiempo de desarrollo, sobrevivencia a la edad adulta y longevidad en machos), en poblaciones experimentales de moscas *Drosophila melanogaster* originarias de un ambiente contaminado y de un ambiente no contaminado por metales pesados.
2. Analizar si la forma de esta relación cambia en función del ambiente y de la población.

Métodos

Con el fin de analizar la relación de la fecundidad con el tiempo de desarrollo, la sobrevivencia a la edad adulta y la longevidad, estos caracteres fueron medidos en la progenie de las cruzas del experimento de genética cuantitativa descrito en el capítulo 2. A manera de recordatorio, a partir de hembras capturadas en el campo, se establecieron dos poblaciones de laboratorio, una proveniente de la zona aledaña a la mina “La Concha” (población de origen contaminado) y la otra de la zona conocida como “El Huixteco” (población de origen no contaminado) en Taxco de Alarcón, Guerrero; zonas contaminada y no contaminada, respectivamente. Las cruzas realizadas para el experimento siguieron un diseño de medios hermanos y su progenie fue repartida equitativamente en seis viales, los cuales contenían los tratamientos experimentales: 0, 5 y 10 mM de cloruro de zinc ($ZnCl_2$); en lo sucesivo, nos referiremos a este compuesto como zinc (Zn). El procedimiento

para el establecimiento de las poblaciones experimentales y del experimento de genética cuantitativa se describe con más detalle en el capítulo 2.

Medición de caracteres de Historia de Vida.

Tiempo de desarrollo y longevidad

La medición del tiempo de desarrollo y la longevidad se describió anteriormente en el capítulo 2. Los datos obtenidos de estas mediciones fueron: el tiempo de desarrollo promedio en días por familia, según el promedio de días transcurridos desde la exposición al tratamiento hasta el día de emergencia; y la longevidad de machos promedio para cada familia, a partir del día de emergencia y hasta el día de muerte; no se tomaron en cuenta las hembras ya que la medición de fecundidad en ellas podía afectar la estimación de la longevidad.

Sobrevivencia a la edad adulta

El porcentaje de sobrevivencia a la edad adulta se estimó, para cada uno de los viales en los que se repartieron las larvas, como la proporción de moscas emergidas del total de larvas que se había colocado en cada vial.

Fecundidad

Al momento de la emergencia, las hembras de la progenie de las cruzas descritas en el capítulo 1 se trasladaron a un frasco con levadura activada con un igual número de

machos de su misma población para su apareamiento y permanecieron ahí durante 72 horas. Posteriormente, las hembras fueron puestas a ovopositar en cajas de Petri con medio de uva y levadura activada, la cual había sido teñida con colorante artificial (vegetal) para permitir la observación y cuantificación de los huevos. Los huevos puestos se contaron 24 horas después y se registraron.

Análisis fenotípico

Para analizar la relación entre la fecundidad y los diferentes caracteres a nivel fenotípico, se buscó hacer una correlación entre la fecundidad y cada uno de los otros caracteres. Sin embargo, debido a la presencia de muchos ceros, la fecundidad no presentó una variación continua. Es por ello que, las familias se clasificaron en categorías de acuerdo a la fecundidad que presentaron. En total fueron cuatro categorías: nula, baja, media y alta fecundidad, se asignaron números a dichas categorías de cero a tres, lo que las designó como variable nominal, ocupando los siguientes intervalos: 0, en la que no se presentó fecundidad; 1, de 0.25 a 26; 2, de 26.5 a 52; y 3, de 52.25 a 171. Usando la categoría de fecundidad como variable explicativa y cada carácter como variable dependiente realizamos un análisis de covarianza (ANCOVA), el cual nos permitió observar si los caracteres presentaron diferencias asociadas a las categorías de fecundidad. Esto permitió dar cuenta de la existencia o no de alguna relación entre ambos caracteres, y evidenciar de manera indirecta la presencia de un compromiso fenotípico.

Este análisis se llevó a cabo mediante el modelo lineal generalizado siguiente:

$$\begin{aligned} \text{Caracter} = & \text{catfecund} + \text{pob} + \text{conc} + \text{pob} * \text{conc} + \text{pob} * \text{catfecun} + \text{conc} \\ & * \text{catfecun} + \text{pob} * \text{conc} * \text{catfecund} + \text{apareamiento} + \text{día} + \text{macho} \\ & + \text{hembra} \end{aligned}$$

Donde la variable de respuesta es el carácter fenotípico del que queremos conocer su relación con la fecundidad, como la sobrevivencia a la edad adulta, el tiempo de maduración y la longevidad en machos; *catfecund* es la categoría de fecundidad (nula (0), baja (1), media (2) alta (3)); *pob* es la población (de origen contaminado o no contaminado); *conc* es la concentración del tratamiento experimental (0, 5, 10 mM Zn). Los efectos fijos son: la categoría de fecundidad, la población, la concentración del tratamiento experimental y la interacción entre estas variables. En este modelo, la interacción entre las diferentes variables, por ejemplo, la interacción entre: la población y la categoría de fecundidad, la población y la concentración, etc., están señaladas por “*”. En este análisis, los factores que más nos interesan por la información que aportan acerca de la relación entre los caracteres son:

- la categoría de fecundidad que aporta información sobre la relación entre la fecundidad y el carácter. Es decir, si los valores fenotípicos del carácter pueden o no estar asociados a una categoría de fecundidad,
- la interacción entre la población y la categoría de fecundidad, que indica si la asociación entre los valores fenotípicos del carácter y las diferentes categorías de fecundidad son diferentes entre poblaciones, o bien, si la población tiene un efecto en esta relación,
- la interacción entre la categoría de fecundidad y la concentración, que indica si la relación entre ambos caracteres cambia dependiendo de la concentración de zinc y,
- la interacción entre población, concentración y categoría de fecundidad, que nos dice si la relación entre estos caracteres en cada población es distinta en las diferentes concentraciones.

También se consideraron como efectos fijos las variables que representan un artefacto del diseño experimental, como el tipo de apareamiento y el día en que las larvas fueron colectadas. El padre (macho) y la madre (hembra) de cada familia se consideraron como variables aleatorias y se incluyeron en el modelo para tomar en cuenta la estructura

de las familias experimentales y cualquier correlación entre los datos debida a esta. Para estos análisis se utilizó el programa estadístico SAS ® 9.0 (2002).

Análisis genético

El análisis de correlación genética entre fecundidad y otros caracteres de historia de vida se llevó acabo tal como se detalla en el capítulo anterior, con la particularidad de que para favorecer la convergencia, los datos se transformaron de la siguiente manera: fecundidad y sobrevivencia a la edad adulta con la función inversa; mientras que el tiempo de desarrollo y longevidad se analizaron sin transformación alguna.

Resultados

Relación entre fecundidad y tiempo de desarrollo

Análisis fenotípico

El tiempo de desarrollo fue significativamente diferente entre las categorías de fecundidad (Cuadro 3.1), siendo en la categoría de fecundidad 2, donde se tiene menor tiempo de desarrollo (Figura 3.1A). Las poblaciones fueron significativamente diferentes en el tiempo de desarrollo de las diferentes categorías de fecundidad, como lo muestra la interacción población*categoría de fecundidad significativa (Cuadro 3.1). En la categoría de fecundidad cero, ambas poblaciones tuvieron un tiempo de desarrollo similar y, mientras que la población de origen contaminado presentó un tiempo de desarrollo similar entre las diferentes categorías de fecundidad, la población de origen no contaminado presentó un tiempo de desarrollo más corto en las categorías de mayor fecundidad (Figura 3.1B). Lo que puede indicar la presencia de un compromiso en la

población de origen no contaminado que no se observó en la población de origen contaminado.

No observamos efectos significativos de la interacción entre las categorías de fecundidad, las poblaciones y las concentraciones de Zn (Cuadro 3.1, figura 3.1C), lo que significa que la forma en que el tiempo de desarrollo se relaciona con la fecundidad en cada población se mantuvo para todos los tratamientos (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Análisis de la variación de la Sobrevivencia a la edad adulta, tiempo de desarrollo y longevidad de machos en función de la categoría de edad que presentó cada familia, la población de origen y la concentración de Zn del tratamiento experimental. Los valores corresponden a la F del análisis de ANOVA tipo 3. Los grados de libertad se presentan entre paréntesis y los diferentes niveles de significancia son: 0.1 +, 0.05 *, 0.005 **, 0.0001 ***

Carácter	Tiempo de desarrollo	Sobrevivencia a la edad adulta	Longevidad en machos
Fuente de variación			
Categoría de fecundidad	3.98 _(3,284) *	2.52 _(3,298) +	1.36 _(3,114)
Población	2.01 _(1,16.9)	4.87 _(1,22) *	0.02 _(1,4.26)
Concentración	3.91 _(2,275) *	7.39 _(2,291) **	9.42 _(2,161) ***
Población*Concentración	0.25 _(2,274)	1.41 _(2,290)	1.08 _(2,114)
Población*Categoría de fecundidad	4.39 _(3,285) **	2.71 _(3,299) *	0.2 _(3,70.9)
Concentración* Categoría de fecundidad	0.8 _(6,283)	3.19 _(6,297) *	1.19 _(6,156)
Población*Concentración*cat egoría de fecundidad	0.27 _(6,283)	1.32 _(6,297)	1.03 _(6,63.1)
Apareamiento	7.03 _(1,178) *	1.06 _(1,59.6)	2.5 _(1,1)
Día	41.84 _(2,135) ***	2.2 _(2,127)	0.56 _(2,48.9)

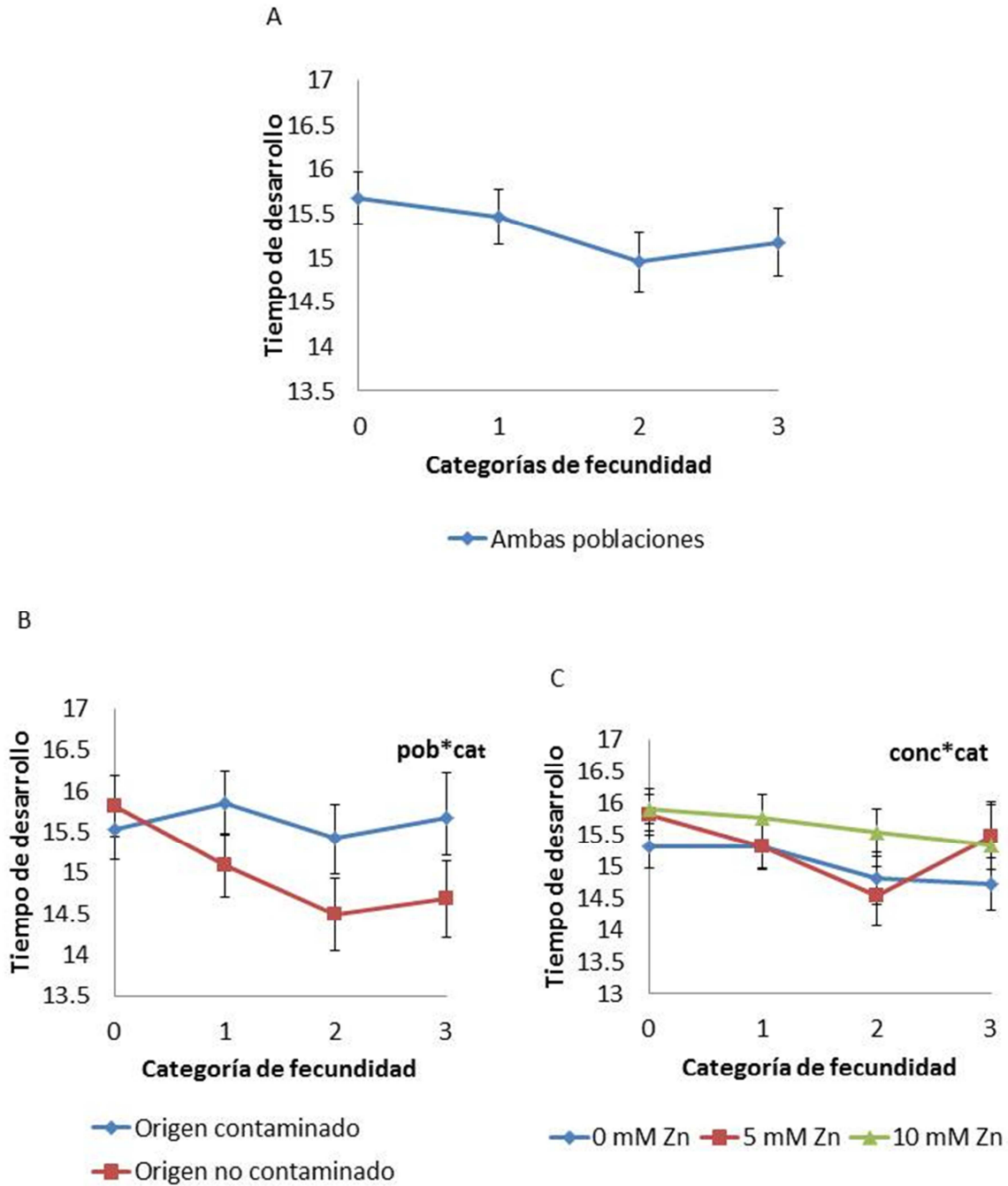


Figura 3.1. Tiempo de desarrollo en las diferentes categorías de fecundidad en A) Ambas poblaciones juntas, B) Las dos poblaciones contrastantes, C) Las diferentes concentraciones de Zn de los tratamientos experimentales. Las barras verticales corresponden al error estándar. Los grupos se consideraron diferentes cuando los errores estándar no se superlaparon.

Análisis genético

En la población de origen no contaminado no observamos correlación genética ni ambiental entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo en ninguno de los tratamientos experimentales debido a que en algunos casos no hubo convergencia (NC), y en otros porque la correlación no pudo estimarse (NE); de igual forma, tampoco, observamos efectos maternos (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2. Estimación de correlaciones genética, ambiental y por efectos maternos en el tiempo de desarrollo y la fecundidad. NC son las correlaciones que no convergieron. NE son las correlaciones no estimadas. Los diferentes niveles de significancia son: 0.1 +, 0.05 *, 0.005 **, 0.0001 ***

Origen de la población	[ClZn mM]	Correlación genética	Correlación ambiental	Efectos maternos
No contaminado	0	NC	NC	NC
	5	NE	-0.004013721	NE
	10	-58721412.93	NE	NE
Contaminado	0	1.889467784*	0.204871107+	-4.221900148+
	5	NE	0.146275091***	NE
	10	NE	-0.013441002	NE

La población de origen contaminado mostró, solamente en el tratamiento control, una correlación genética positiva y significativa entre estos caracteres y una correlación ambiental positiva y significativa en el tratamiento 5 mM. Esta población también mostró una correlación ambiental positiva y efectos maternos marginalmente significativos en el tratamiento control (Cuadro 3.2).

Relación entre fecundidad y sobrevivencia en la edad adulta

Análisis fenotípico

De acuerdo al análisis de ANCOVA, encontramos que existen diferencias marginales en la sobrevivencia a la edad adulta entre las familias con diferentes categorías de fecundidad, esto es para el conjunto de datos completo (ambas poblaciones juntas) (Cuadro 3.1, Figura 3.2A). En general, las familias de fecundidad más alta presentaron una sobrevivencia ligeramente más baja que las de fecundidad intermedia, pero presentaron mayor variación (Figura 3.2A). También observamos un efecto significativo de la interacción entre las categorías de fecundidad y la población de dónde las familias son originarias, es decir, que la relación entre la sobrevivencia y la fecundidad es diferente entre ambas poblaciones (Cuadro 3.1). Para las categorías de fecundidad 0, 1 y 2 la sobrevivencia a la edad adulta es similar entre ambas poblaciones. La población de origen no contaminado presenta mayor sobrevivencia en la categoría de fecundidad 3, a diferencia de la población de origen contaminado que presenta una disminución en la sobrevivencia de la categoría de fecundidad alta (3) (Figura 3.2B). Es decir, las familias provenientes de la población de origen no contaminado, que tuvieron mayor fecundidad, también tuvieron mayor sobrevivencia. Mientras que las familias provenientes de la población de origen contaminado con fecundidad alta tuvieron menor sobrevivencia a la edad adulta. Esto sugiere un posible compromiso expresado por las familias de la población de origen contaminado en el ambiente con mayor concentración de zinc.

En este análisis también encontramos efectos significativos de la interacción entre las categorías de fecundidad y la concentración de Zn (Cuadro 3.1). Esto significa que la relación entre la fecundidad y la supervivencia a la edad adulta depende de la concentración a la que las familias estuvieron expuestas. Las familias con las categorías de fecundidad 0, 1 y 2 presentan niveles de supervivencia similares en los diferentes tratamientos; mientras que las familias con categoría de fecundidad 3 tuvieron una mayor supervivencia en el tratamiento control y menor supervivencia en los tratamientos con concentración de Zn medio y alto (Figura 3.2C). Lo que sugiere un compromiso entre la fecundidad y la supervivencia, que se expresa en altas concentraciones de Zn, que se observa cuando consideramos a ambas poblaciones juntas.

La interacción entre la categoría de fecundidad con la concentración de Zn y la población no fue significativa, es decir, que la relación entre la fecundidad y la supervivencia, que presentaron cada una de las poblaciones, no fue afectada por la concentración de zinc (Cuadro 3.1).

Análisis genético

La población de origen no contaminado mostró una correlación genética positiva y marginalmente significativa entre la supervivencia a la edad adulta y la fecundidad que se expresó en el tratamiento de concentración alta de Zn, mientras que en el tratamiento sin concentración de Zn no pudo observarse correlación alguna porque no hubo convergencia (Cuadro 3.3). En otros tratamientos no encontramos una correlación genética ni ambiental ni por efectos maternos para la relación entre estos caracteres en esta población (Cuadro 3.3).

Por otro lado, la población de origen contaminado presentó una correlación ambiental positiva y significativa en el tratamiento de concentración media (Cuadro 3.3) y una correlación ambiental negativa, marginalmente significativa entre la supervivencia a la edad adulta y la fecundidad en el tratamiento control.

Cuadro 3. Estimación de correlaciones genética, ambiental y por efectos maternos en la sobrevivencia a la edad adulta y la fecundidad. NC son las correlaciones que no convergieron. NE son las correlaciones no estimadas. Los diferentes niveles de significancia son: 0.1 +, 0.05 *, 0.005 **, 0.0001 ***

Origen de la población	[ClZn mM]	Correlación genética	Correlación ambiental	Efectos maternos
No contaminado	0	NC	NC	NC
	5	NE	0.555018862	NE
	10	2.480416106+	0.177809633	-6.31115363
Contaminado	0	1422090437	-0.085314792+	NE
	5	NE	0.465488229***	NE
	10	0.15357803	-0.285526322	1.187935708

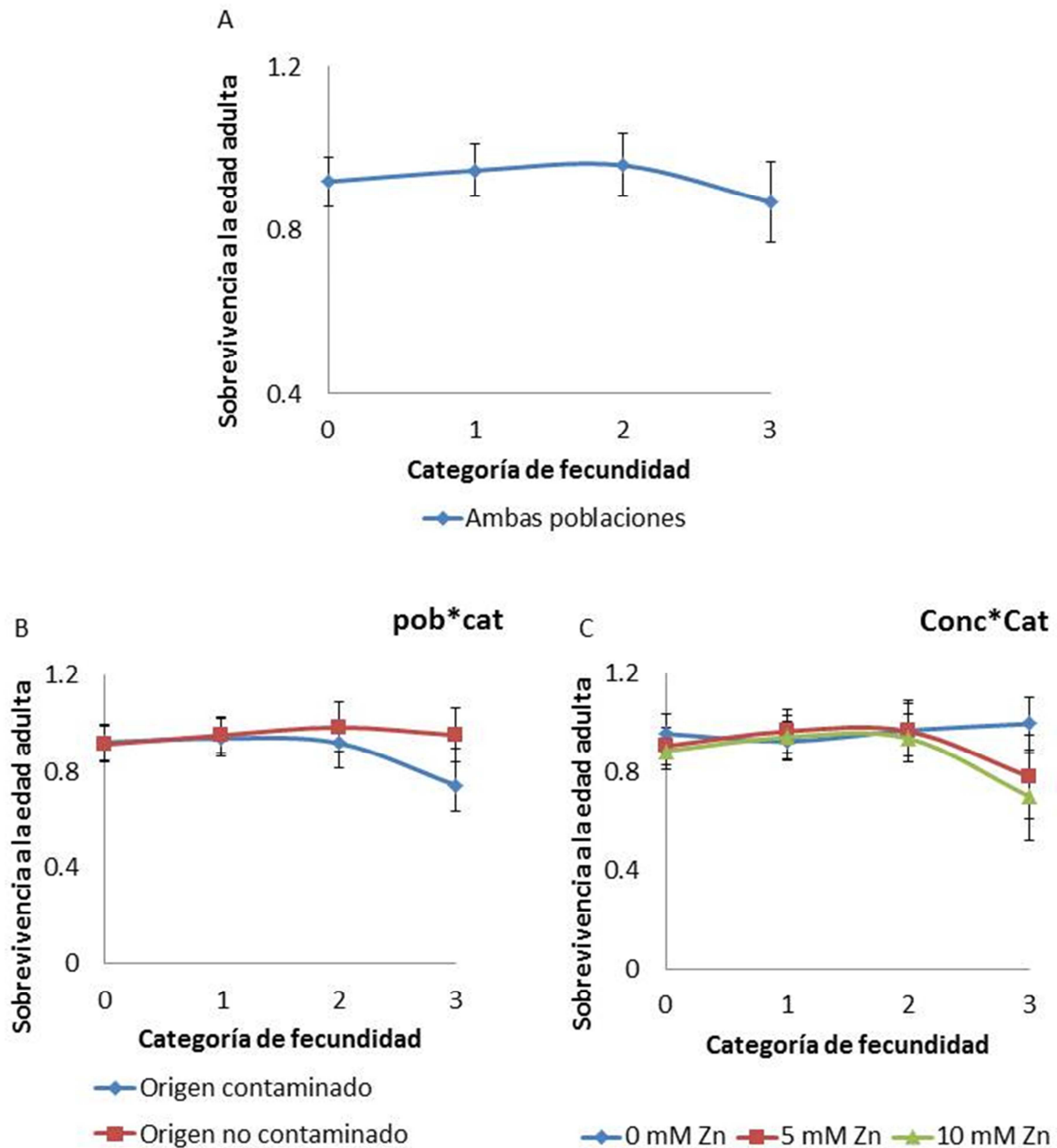


Figura 3.2. Sobrevivencia a la edad adulta en las diferentes categorías de fecundidad en A) ambas poblaciones juntas, B) las dos poblaciones contrastantes, C) las diferentes concentraciones de Zn de los tratamientos experimentales. Las barras verticales corresponden al error estándar. Los grupos se consideraron diferentes cuando los errores estándar no se solaparon.

Relación entre la fecundidad y la longevidad en machos

Análisis fenotípico

El análisis de ANCOVA no reveló ningún efecto significativo de la categoría de fecundidad en la longevidad (Cuadro 3.1).

La interacción de la población con la categoría de fecundidad no fue significativa, lo que indica que tampoco se observó una relación entre las diferentes categorías de fecundidad y la longevidad al analizar cada población independientemente (Cuadro 3.1, Figura 3.3A). El mismo patrón se observa al comparar la relación de la longevidad con las diferentes categorías de fecundidad entre los diferentes tratamientos de zinc, como lo muestra la falta de significancia de la interacción de la concentración de zinc con la categoría de fecundidad (Cuadro 3.1, Figura 3.3B). Finalmente, la interacción población* concentración*categoría de fecundidad no fue significativa, lo que indica que la concentración no cambia la falta de relación entre las categorías de fecundidad y la longevidad al interior de ambas poblaciones (Cuadro 3.1).

Análisis genético

En el caso de la relación entre la longevidad de machos y la fecundidad, no observamos una correlación genética en ninguna de las combinaciones posibles de población y concentración de tratamiento experimental; en ambas poblaciones en el tratamiento sin Zn la correlación no se observó a causa de la no convergencia (Cuadro 3.4). De igual manera, no hubo correlación ambiental ni por efectos maternos significativas, entre la longevidad de machos y la fecundidad, en las combinaciones de población*tratamiento que si convergieron (Cuadro 3.4).

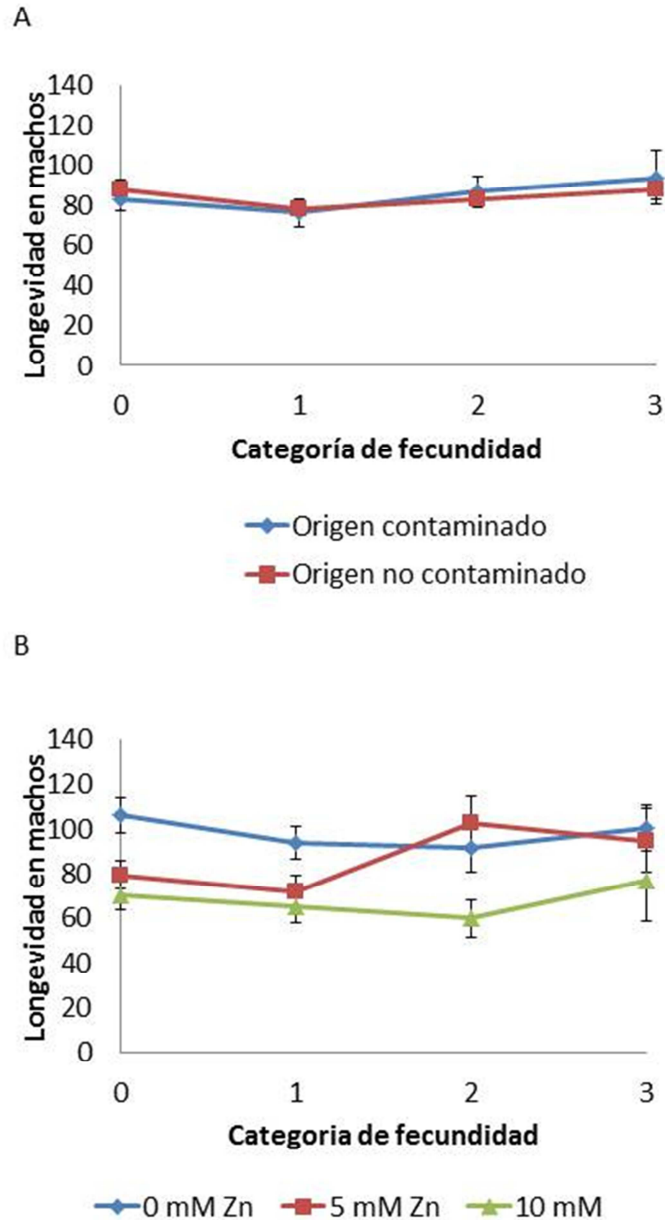


Figura 3.3. Longevidad en machos en las diferentes categorías de fecundidad. Donde A) relación entre la longevidad en machos y las categorías de fecundidad entre las dos diferentes poblaciones, y B) relación entre la longevidad en machos y las categorías de fecundidad, según las diferentes concentraciones de Zn de los tratamientos experimentales. Las barras verticales corresponden al error estándar. Los grupos se consideraron diferentes cuando los errores estándar no se superlapan.

Cuadro 3.4. Estimación de correlaciones genética, ambiental y por efectos maternos en la longevidad de machos y la fecundidad. NC son las correlaciones que no convergieron. NE son las correlaciones no estimadas. Los diferentes niveles de significancia son: 0.1 +, 0.05 *, 0.005 **, 0.0001 ***

Origen de la población	[ClZn mM]	Correlación genética	Correlación ambiental	Efectos maternos
No contaminado	0	NC	NC	NC
	5	NE	0.238411318	0.253533348
	10	1.143901892	0.577265623	NE
Contaminado	0	NC	NC	NC
	5	169495369.5	0.288610606	NE
	10	1.28322E+16	0.059057544	NE

Discusión

Como se mencionó en la introducción, el trasfondo genético de las poblaciones, la interacción genotipo ambiente, el régimen de selección y la endogamia son factores que pueden modificar la expresión de las correlaciones en las poblaciones. En este estudio, las poblaciones experimentales han sido sometidas a las mismas condiciones ambientales durante 20 generaciones de endogamia, sin embargo, debido a su origen (contaminado y no contaminado) y a los posibles costos de la tolerancia que puede presentar la población

de origen contaminado esperábamos un comportamiento diferente entre ambas poblaciones. Cabe recordar que si la tolerancia significa un costo para ambos caracteres nosotros esperábamos que la correlación entre la fecundidad y otros caracteres de historias de vida fuera positiva en la población de origen contaminado y por el contrario, que si los costos de reproducción son mayores en condiciones de estrés, podríamos encontrar correlaciones negativas entre la fecundidad y los otros caracteres en este tipo de ambientes.

Para facilitar la discusión, procederemos a analizar la relación de la fecundidad con cada carácter por separado.

Fecundidad y tiempo de desarrollo

La comparación entre poblaciones en la relación entre el tiempo de desarrollo y la fecundidad es complicada debido a que la información que contamos de cada población proviene de análisis diferentes. En este caso, no contamos con información sobre lo que sucede a nivel genético en la población de origen no contaminado ya que no obtuvimos resultados para ésta en el análisis correspondiente. Lo que nos insta a realizar una comparación entre ambas poblaciones en tres escalas diferentes.

En primer lugar, el análisis a nivel fenotípico sugirió que la población de referencia, la población de origen no contaminado, presentó un compromiso fisiológico entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo que se mantiene independientemente del tratamiento experimental, mientras que el mismo análisis no evidenció ningún compromiso fisiológico para la población de origen contaminado. Por otro lado, el análisis genético no tuvo la resolución suficiente para revelar alguna correlación, entre estos caracteres (si es que existe) para la población de origen no contaminado; mientras que, para la población de origen contaminado, se observaron correlaciones positivas en el ambiente sin zinc y en la concentración 5 mM de zinc. Estos resultados en general

sugieren que las poblaciones se comportan de manera diferente para la relación de tiempo de desarrollo y fecundidad. Una explicación posible es la diferencia en el trasfondo genético que poseen las poblaciones (Rose et al., 2005; Martínez, 2016), es decir, el origen que tienen. Ya sea que provengan de un lugar contaminado o de uno no contaminado, las poblaciones tienen puntos de partida genéticamente diferentes y tuvieron trayectorias evolutivas diferentes durante las 20 generaciones de endogamia en el laboratorio.

En segundo lugar, al comparar el comportamiento de cada población observamos que la población de origen no contaminado, presentó un compromiso fisiológico entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo que se mantiene independientemente del tratamiento experimental. Esto concuerda con la idea de que el tiempo de desarrollo rápido puede ser adaptativo, como mencionamos en el capítulo dos, asegurando que el desarrollo de las moscas esté completo y puedan reproducirse antes de que las condiciones ambientales se deterioren (Sorensen y Loeschcke, 2004; Parsons, 2007) ; sin embargo, el análisis genotípico no nos dio la resolución suficiente para probar la heredabilidad de esta relación, ni evidenció una correlación genética, ambiental o por efectos maternos para estos caracteres. Pankaj y Sharma (2014) indican que la observación genética de un compromiso no sólo depende de la arquitectura genética del organismo, sino también de los protocolos experimentales. En este caso, es necesario tomar en cuenta que los análisis fenotípico y genético no son equivalentes porque, para realizar la ANCOVA del análisis fenotípico, tuvimos que agrupar las familias en categorías de fecundidad, algo que no se hizo en el análisis genético. En tanto que, en el análisis genético tuvimos que separar los datos de cada combinación de población con concentración, debido a que el tamaño de muestra no fue suficientemente grande para hacer un análisis que incluyera todos los factores; lo que disminuyó los grados de libertad y la precisión de las estimaciones de las correlaciones genéticas. Posiblemente esto disminuyó la probabilidad de que observáramos un compromiso genético, en caso de que este estuviera presente como lo sugiere el análisis fenotípico.

Por otro lado, la población de origen contaminado presentó una correlación genética positiva en el ambiente libre de zinc y una correlación ambiental positiva en la

concentración de 5 mM. Esto nos permite dar cuenta de que el ambiente es determinante para esta población, ya que éste puede afectar la correlación entre estos caracteres. El cambio ambiental al que las moscas son expuestas, en este caso, las diferentes concentraciones de Zn, puede explicar por qué no se presenta una correlación para la población de origen contaminado en un ambiente con presencia de zinc, puesto que el cambio de ambiente puede, no sólo modificar el signo de una correlación, sino que también, si es muy estresante, puede romper los compromisos y que éstos no se puedan observar (Rose et al. 2005).

De acuerdo con nuestra hipótesis, si el costo de la tolerancia en un ambiente libre de metales involucra a ambos caracteres, éstos disminuirían su valor fenotípico, por lo que esperaríamos encontrar una relación positiva entre ambos caracteres. La correlación genética positiva entre tiempo de desarrollo y fecundidad, observada en la población de origen contaminado, en el ambiente libre de zinc, parece seguir lo predicho por esta hipótesis. El tiempo de desarrollo influye en la calidad de los organismos, que puede estar reflejada, por ejemplo, en el tamaño de éstos, el cual está relacionado indirectamente con la fecundidad (Mouseeau y Dingle, 1991; Roff, 2000) Según van Noordwijk y De Jong (1986), los organismos con mayor calidad pueden tener más progenie y también una mayor longevidad, lo que produce una correlación positiva (Metcalf y Monaghan, 2013). Esta correlación positiva ha sido reportada en *Drosophila* por Hirazumi (1961, en Nunney, 1996); también por Rose (1984b), quien además, menciona que las correlaciones positivas dominan sobre las negativas. Según Giesel et al. (1982, en Rose, 1984b), todos los componentes de la adecuación se encuentran correlacionados positivamente con sólo algunos ajustes, dependiendo del ambiente. Esto significa que la presencia de la correlación positiva entre fecundidad y tiempo de desarrollo, puede no ser extraña y podría ser un reflejo de la condición de los organismos en cada ambiente. La correlación genética positiva para la población de origen contaminado en el ambiente libre de contaminante, también, puede indicar que hubo selección sobre la condición de los individuos de la población de origen contaminado en este ambiente. Esta selección puede deberse a que los individuos de esta población estaban adaptados a un ambiente

contaminado y al estar expuestos a un ambiente libre de contaminación durante 20 generaciones, pagaron costos de tolerancia favoreciéndose los organismos con una mejor condición general. Es decir, que esta población, como tolerante a los metales pesados, presentó gastos fisiológicos que no son adaptativos en un ambiente libre de zinc. También es posible que no observemos una correlación en el ambiente con mayor contaminación debido a que la población de origen contaminado ya no está adaptada al ambiente contaminado, y que este ambiente afectó la expresión de un carácter, causando que la correlación se rompiera.

Estos resultados contrastan con lo observado en diferentes estudios a nivel fenotípico y/o genético en poblaciones de *D. melanogaster* sometidas a selección o a ambientes estresantes, donde la relación entre estos caracteres es negativa (Nunney, 1996; Dey et al. 2008; Roff, 2000; Rodrigues et al. 2015; Sorensen y Loeschcke, 2004; Teder et al, 2008). Esta observación también es contraria a lo reportado en *D. ananassae* (Yadav y Singh, 2007) y en otros organismos como en el grillo *Gryllus pennsylvanicus* en poblaciones naturales (Simons y Roff, 1996), en coleópteros (Seslija y Tuic, 2003) y en escarabajos sometidos a estrés por Zn, donde se observó un tiempo de desarrollo prolongado y una fecundidad baja (Kramarz, 1997). Dicho contraste puede deberse a que en los estudios anteriormente mencionados, los organismos fueron seleccionados para ser tolerantes, y en nuestro caso, la población de origen contaminado tuvo que pagar costos de la tolerancia en un ambiente libre de contaminantes durante 20 generaciones de endogamia.

Ahora bien, las correlaciones genéticas pueden ser afectadas por las interacciones genotipo ambiente, ya que el ambiente puede cambiar el signo de las correlaciones genéticas entre caracteres (Rose et al., 2005). En nuestro caso, el análisis fenotípico sugiere que esta interacción no existe (como lo indica la falta de significancia en la interacción población * concentración * categoría de fecundidad). Al mismo tiempo, también, es importante considerar que el grado de endogamia también puede cambiar el signo en las correlaciones genéticas (Simons y Roff, 1996; Rose et al., 2005). Las poblaciones experimentales estuvieron en condiciones de laboratorio durante 20

generaciones de endogamia, lo cual pudo provocar depresión endogámica, que a su vez disminuyó los valores de todos los caracteres de historia de vida y produjo una correlación positiva entre ellos (Rose et al., 2005); lo anterior podría ser una de las causas por las que la población de origen contaminado presenta correlaciones positivas. Sin embargo, no tenemos resultados en el análisis genético en la población de origen no contaminado, que nos permitan saber que podría estar ocurriendo en ella a nivel genético y el compromiso fenotípico observado entre estos caracteres, en esta población, contradice esta hipótesis.

Fecundidad y sobrevivencia a la edad adulta

A nivel fenotípico, la población de origen no contaminado no mostró ninguna relación entre fecundidad y sobrevivencia a la edad adulta mientras que la población de origen contaminado presentó un posible compromiso entre la fecundidad y la sobrevivencia a la edad adulta, donde aquellas familias con mayor sobrevivencia tuvieron menor fecundidad independientemente del tratamiento experimental. Esto concuerda parcialmente con nuestras hipótesis, en la que esperábamos una diferencia en esta relación entre las poblaciones; y nuestros resultados indican que éstas están diferenciadas para este compromiso.

Al igual que para la relación entre el tiempo de desarrollo y la fecundidad, una expresión diferente del compromiso entre sobrevivencia a la edad adulta y fecundidad entre ambas poblaciones, la podemos explicar porque éstas provienen de lugares contrastantes, en referencia a la presencia de metales pesados en el suelo. Suponemos que, originalmente, la población del ambiente contaminado poseía un genotipo distinto al de la población de origen no contaminado (Jordaens et al., 2006); y estas diferencias entre poblaciones parecen haberse mantenido a pesar de que la endogamia y deriva génica, que sufrieron las familias durante las 20 generaciones de endogamia, pudieron haber promovido una homogeneización entre poblaciones.

A nivel genético, la población de origen no contaminado presentó una correlación genética positiva entre ambos caracteres en el ambiente con mayor concentración de zinc (10 mM Zn) y la población de origen contaminado presentó una correlación ambiental significativa y negativa entre estos dos caracteres en el tratamiento libre de zinc que cambia de dirección negativa a positiva en presencia de zinc. Nuevamente, estos resultados sugieren que no existe un compromiso genético entre estos caracteres en el ambiente con mayor concentración de zinc, ya que ambas poblaciones presentan correlaciones positivas y se favorece a los individuos con mejor condición. El origen ambiental de esta correlación en la población de origen contaminado indica que la relación entre la sobrevivencia a la edad adulta y la fecundidad es plástica para esta población, es decir, que cambia según el ambiente en el que esté. Mientras que el origen genético de la correlación en la población de origen no contaminado indica que dicha correlación es heredable en esta población, confiriéndole cierta capacidad de respuesta evolutiva al estrés ambiental. Esto último es coherente con lo observado en la relación entre fecundidad y tiempo de desarrollo, donde parece haber selección de organismos con una mejor condición. Una correlación positiva se puede observar en un ambiente que merma las condiciones generales de los organismos, debido a que éste impone costos a los organismos que disminuyen los valores fenotípicos de los caracteres (Rose et al., 2005). La correlación positiva entre estos caracteres, que presentan ambas poblaciones, en el ambiente con mayor concentración de zinc, indica que, si consideramos a la sobrevivencia como un indicativo de la condición, las familias que tienen una mayor sobrevivencia, presentan organismos con una mejor condición y que son favorecidos con una mayor fecundidad en este ambiente. Otra explicación que podemos apuntar es que, tal vez, la sobrevivencia se encuentra asociada con otro carácter, por ejemplo, al tiempo de desarrollo, como lo mencionan Borash et al. (2000), quienes observaron que, en moscas con rápido desarrollo, se reduce la viabilidad, y que, además, son vulnerables a ambientes tóxicos; esta asociación, significaría una menor calidad en la progenie y menor fecundidad. Una disminución en el valor fenotípico para estos caracteres, concuerda con la correlación positiva que observamos para fecundidad y tiempo de desarrollo en el ambiente con zinc.

Este resultado también concuerda con otros en que se han reportado correlaciones positivas en *D. melanogaster* entre la fecundidad y sobrevivencia a la edad adulta (García et al. 1994, en Fernández y López-Fanjul, 1996); y en condiciones de estrés por bajas temperaturas, donde, tanto la sobrevivencia como la fecundidad disminuyen (Marshall y Sinclair, 2010).

Por su lado, la correlación positiva que presenta la población de origen contaminado en presencia de la mayor concentración de Zn, sugiere un comportamiento parecido al de la población de origen no contaminado, con la diferencia de que su variación es ambiental y, por lo tanto, plástica. Si consideramos que la población de origen contaminado se comporta de manera similar a la población de origen no contaminado, en el ambiente estresante, como un reflejo de la disminución en la condición de los organismos como una respuesta a un medio estresante (Mousseau y Dagle, 1991), podríamos pensar que esta población perdió la tolerancia a los metales pesados debido a la selección que sufrió por pagar los costos de la tolerancia durante las 20 generaciones de endogamia sin el agente selectivo y por lo tanto, ahora se encuentra maladaptada a este ambiente (Martínez, 2016). Sin embargo, en el caso de la población de origen contaminado como una población que suponemos, en principio, adaptada a un ambiente contaminado, también, es probable que existan individuos que estén expresando alelos que les confieren resistencia a los metales pesados, (Leroi et al., 1994b; Lagisz et al. 2002). Por ejemplo, en poblaciones naturales de *Drosophila* adaptadas a ambientes estresantes se ha observado que presentan un mejor desempeño en caracteres de historia de vida como son: desarrollo rápido, alta sobrevivencia y longevidad (Parsons, 2007). Entonces, la correlación positiva puede deberse a que los valores fenotípicos de ambos caracteres en lugar de disminuir, aumentaron (a diferencia de la población de origen no contaminado, donde probablemente los valores disminuyeron); y que ambas poblaciones responden con un cambio en la utilización de recursos debido a fluctuación de la exposición al estrés (Marshall y Sinclair, 2010). Esto sería coherente con la idea de que miembros de la población de origen contaminado pagaron costos de la tolerancia en un ambiente libre del contaminante.

Un resultado de la influencia del ambiente y del carácter plástico de la relación en la población de origen contaminado lo observamos en el cambio de dirección de la correlación de negativa en un ambiente sin Zn, a positiva en el ambiente con Zn (Leroi et al, 1994a). Es posible que este cambio sea reflejo de la selección que sufren los miembros de la población de origen contaminado, en un ambiente sin zinc, por pagar los costos de la tolerancia. Entonces, la correlación ambiental negativa observada para esta población, en el ambiente libre de zinc, indica la existencia de un compromiso plástico entre estos caracteres que se expresa dependiendo del ambiente, del que no podemos decir que es adaptativo, puesto que no encontramos un componente genético. Este compromiso plástico puede indicar que las moscas provenientes de un ambiente contaminado pagan un costo de tolerancia en sus valores fenotípicos en el ambiente no contaminado durante las 20 generaciones de endogamia, dando como resultado moscas con mejor condición (con mayor sobrevivencia promedio) y menor fecundidad (realizan una mayor inversión en mantenimiento a costa de la fecundidad).

Fecundidad y longevidad en machos

La fecundidad y la longevidad en machos no presentaron una relación fenotípica entre ellos y tampoco mostraron una correlación genética en ninguna de las combinaciones posibles de población y concentración de zinc. En contraste con otros trabajos donde se ha observado una correlación negativa, con base genética, entre reproducción y tiempo de vida (Patridge y Andrews, 1985; Prowse y Partridge, 1997; Vermeulen et al., 2006; Marshall y Sinclair, 2010; Rose, 1984a; Gasser et al., 2000) y con aquellos en donde los factores ambientales permitieron la observación de esta misma (Patridge y Andrews, 1985; Prowse y Partridge, 1997; Vermeulen et al., 2006; Marshall y Sinclair, 2010; Rose, 1984a; Gasser et al., 2000) (todos ellos en hembras de *D. melanogaster*), nosotros no observamos un compromiso a nivel fenotípico y/o genético entre estos caracteres, en ninguna combinación de los tratamientos y poblaciones experimentales.

Siendo éste uno de los principales ejemplos de compromisos de historia de vida (Rose et al, 2005) y al tener ambas poblaciones un trasfondo genético diferente, en nuestra hipótesis original esperábamos que la población de origen contaminado presentara diferencias en la expresión de este compromiso con la población de origen no contaminado; y que también presentara un compromiso entre la fecundidad y la longevidad en los ambientes libres de estrés como respuesta a un posible costo reproductivo. La mayoría de los estudios que analizan la relación entre la fecundidad y la longevidad, lo hacen considerando los efectos de la fecundidad en la longevidad de las hembras, en contraste, en este trabajo analizamos la relación de fecundidad en hembras y de la longevidad en machos de la misma familia. Es decir que, analizamos si los caracteres de fecundidad y longevidad están ligados genéticamente. En otras palabras, en el caso de encontrar una correlación genética negativa, los alelos que arrojan una baja longevidad estarían asociados, en el genoma, con alelos que resultan en una alta fecundidad; y la correlación observada se debería a desequilibrio de ligamiento ya sea porque los alelos están cercanos en el genoma o bien, que haya ocurrido una selección correlacionada. Sin embargo, esto no se observó.

Generalmente se considera que el mayor costo reproductivo lo tienen las hembras, mientras que en los machos el costo es relativamente bajo (De Loff, 2011). Sin embargo, en los machos, se espera un costo en la longevidad por la actividad reproductiva, ya que invierten nutrientes en el mantenimiento y reparación corporal, así como en el cortejo en un periodo de larga actividad reproductiva (Patridge y Andrews, 1985; Prowse y Patridge, 1997; Hunt et al., 2006; Edward y Chapman, 2013, Mishra y Omkar, 2006; Miyatake, 1997). Los machos en este experimento no se encontraron sometidos a dicho estrés reproductivo, así que no sufrieron un desgaste fisiológico considerable, lo que explicaría que los machos no pagaron costos de la reproducción en longevidad.

De acuerdo con nuestras hipótesis, el que la población de origen contaminado presentara una correlación ambiental positiva en un ambiente libre de zinc, indicaría que probablemente está pagando costos de tolerancia, debido a una disminución en el valor fenotípico de ambos caracteres. Pero no observamos ninguna correlación, por lo que el

análisis de esta relación no aporta evidencia sobre si se están pagando costos de la tolerancia en longevidad, o en recursos asignados al mantenimiento.

Una posible explicación es que el compromiso no se observara debido a que la población de origen contaminado pudo haber perdido tolerancia durante la adaptación a las condiciones del laboratorio, que se redujera la intensidad de la selección por resistencia (Hoffman et al. 2001) y como resultado, estuviera más adaptada a un ambiente libre de zinc, dejando de pagar costos de la tolerancia en ese ambiente. De acuerdo con esto, esperaríamos encontrar una respuesta al estrés. No obstante, nosotros tampoco observamos una relación en el ambiente contaminado.

La pregunta que nos hacemos es ¿por qué no observamos correlación alguna? Las moscas del presente estudio fueron muy longevas, pero no se encontró varianza genética para la longevidad (Martínez, 2016). Cuando hay ausencia de varianza genética, no se presenta correlación genética alguna con otros caracteres. Esta falta de correlación genética concuerda con lo reportado en el capítulo anterior, en la relación entre longevidad en machos y el tiempo de desarrollo.

Otra razón por la que no detectamos una correlación significativa entre estos caracteres puede ser que nosotros medimos la fecundidad de un sólo día, tomándola como un indicativo de la fecundidad total. Sin embargo, esta medida de fecundidad suele relacionarse con la edad de las hembras; y nosotros no consideramos esta variable en el experimento. Además de que este análisis se hizo con machos, por lo que no estamos observando costos de la reproducción, ya que no se reprodujeron. Todo lo anteriormente mencionado, significa que: no es que no exista el compromiso, sino que no lo detectamos con los datos obtenidos.

Conclusiones generales

En conclusión, en la relación observada entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo, los análisis sugieren que las poblaciones se comportan de manera diferente con respecto a esta relación. De manera particular, el análisis fenotípico sugiere un compromiso fisiológico para la población de origen no contaminado, pero la falta de evidencia genética nos impide comprobar su carácter adaptativo. En tanto que la población de origen contaminado, podría estar pagando costos de la tolerancia, ya que aparentemente, la correlación positiva ambiental que presenta en un ambiente con poca o nula presencia de zinc está reflejando una disminución en los valores fenotípicos de los caracteres.

Los resultados de la relación mencionada en el párrafo anterior son similares a los encontrados en la relación entre los caracteres de fecundidad y sobrevivencia a la edad adulta, es decir, hay una diferenciación entre poblaciones en la expresión de compromisos que se mantuvieron a pesar de las 20 generaciones de endogamia; y que la población de origen contaminado presentó compromisos plásticos, por lo que el ambiente es determinante en su expresión. En ambas relaciones, se observa que, aparentemente, la población de origen contaminado pagó costos de la tolerancia durante el periodo de endogamia, lo que parece estar reflejando selección sobre la condición de los organismos en presencia de zinc; lo que resulta en correlaciones positivas en el ambiente libre de zinc y una posible maladaptación en un ambiente contaminado por éste. Asimismo, en la población de origen contaminado identificamos que se está pagando un costo de la tolerancia en ambientes con menor concentración de zinc, en tanto que en un ambiente con mayor concentración no paga costos de tolerancia.

Por último, para la fecundidad y longevidad en machos, no se encontró indicio de costos ni de la reproducción ni de la tolerancia.

El diseño experimental parece haber determinado la observación o no de compromisos genéticos entre estos caracteres de historia de vida. En este caso, un tamaño de muestra mayor, que permita un análisis con todos los factores, podría

aumentar la precisión del estudio y la probabilidad de detectar o no las correlaciones genéticas presentes en las poblaciones.

Capítulo 4

Discusión general

La diversidad biológica es resultado de millones de años de evolución, pero en los últimos cientos de años el ambiente ha sido modificado radicalmente por las diferentes actividades humanas. Dichos cambios ocurren cada vez más rápido y cabe preguntarse si los organismos pueden responder a estos y adaptarse.

En el capítulo uno vimos que un ejemplo de modificación ambiental causada por el hombre es la contaminación por metales pesados. Un ambiente contaminado por metales pesados es un ambiente estresante que ejerce una presión selectiva y desemboca, posteriormente, en la adaptación de algunos de los organismos inmersos en él, por lo que no encontramos la misma diversidad en un ambiente contaminado que en uno libre de contaminación (Stanton et al., 2000). Una forma de adaptación a los metales pesados es la tolerancia, la cual tiene consecuencias sobre la adecuación. De esta manera, la distribución de la energía, entre la tolerancia y otras funciones, puede generar compromisos entre los caracteres ligados a la adecuación. Por lo tanto, es lógico pensar que la adaptación a ambientes contaminados por metales pesados puede incluir ajustes en los diferentes caracteres de historia de vida y en la manera en la que estos se relacionan entre sí (Posthuma y van Straalen, 1993; Braendle et al, 2011).

El propósito del presente trabajo fue el de responder a la pregunta sobre si las poblaciones experimentales, una proveniente de un ambiente libre de contaminación y otra proveniente de un ambiente contaminado por metales pesados, presentaban compromisos entre sus caracteres de historia de vida asociados a la tolerancia; y si estos compromisos se modificaban al ser expuestos a un ambiente contaminado. Partimos con las siguientes hipótesis generales:

1. Si las relaciones encontradas se debían a la adaptación a un medio estresante, esperábamos que se expresaran de manera diferente entre las poblaciones.

2. Si estas relaciones eran plásticas, esperábamos que la expresión de estos caracteres cambiara en ambientes distintos.
3. Si los compromisos de historias de vida son adaptativos en el ambiente del que provienen las poblaciones, esto se reflejaría en una correlación genética entre los caracteres.

Nuestros resultados arrojaron que las poblaciones presentan diferencias respecto a las relaciones entre los diferentes caracteres de historia de vida, como lo evidencian las diferencias entre poblaciones en las relaciones entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo; y entre la fecundidad y la sobrevivencia a la edad adulta. En la relación entre la fecundidad y el tiempo de desarrollo, se presentan compromisos fisiológicos en la población de origen no contaminado en todos los ambientes, mientras que la población de origen contaminado presenta sólo correlaciones positivas a nivel genético en ambientes con poca concentración de Zn. Por otro lado, en la relación entre la fecundidad y la sobrevivencia a la edad adulta, la población de origen no contaminado presentó una correlación genética positiva en la concentración más alta del tratamiento, mientras que la población de origen contaminado presentó correlaciones ambientales negativas en el ambiente libre de zinc y positivas en los ambientes con zinc. Dichas diferencias son, probablemente, producto del origen distinto de las poblaciones, las cuales se mantuvieron diferenciadas a pesar de que ambas poblaciones estuvieron en un ambiente libre de contaminación durante 20 generaciones de endogamia, es decir, estas poblaciones presentan un trasfondo genético diferente. Descartamos que estas diferencias entre poblaciones se deban a la deriva génica o a la endogamia porque estos mecanismos aumentan la varianza entre familias, en otras palabras habría mayor varianza intrapoblacional que varianza entre poblaciones. En este experimento, las poblaciones estuvieron sometidas a los mismos procesos, pero no observamos que fueran similares en las correlaciones entre los caracteres de historias de vida; por lo que las diferencias entre ellas se deben en parte a un trasfondo genético diferente y, por lo tanto, consideramos que estaban diferenciadas originalmente; y también en parte a que la población proveniente de un ambiente contaminado estaba adaptada a éste y las

diferencias observadas entre poblaciones se deben probablemente a una selección diferencial entre ambas poblaciones durante las 20 generaciones de endogamia.

Sin embargo, otras relaciones entre caracteres de historia de vida, no evidencian una diferencia en el comportamiento en las poblaciones. Como es el caso en el que ambas poblaciones no presentaron una relación fenotípica entre la longevidad y el tiempo de sobrevivencia a la edad adulta en las concentraciones bajas en zinc; otro ejemplo, en el que las poblaciones se comportaron de manera similar, fue en la relación entre fecundidad y la longevidad en la que no se observó relación alguna en ninguna de las poblaciones. En este último caso, la ausencia de relación en ambas poblaciones puede deberse a que, durante las 20 generaciones de endogamia, la varianza genética de uno de los caracteres haya disminuido debido a selección, por lo que las correlaciones genéticas pudieron haberse perdido. También, esto puede indicar que las poblaciones comparten respuestas a los ambientes contaminados, por lo que es probable que exista una preadaptación en las poblaciones naturales. Una evidencia de esto es la relación ambiental negativa entre la longevidad y el tiempo de desarrollo para la población de origen no contaminado en un ambiente contaminado. Esta preadaptación, también podemos inferirla a través de la correlación genética positiva presente en la población de origen no contaminado entre fecundidad y sobrevivencia en un ambiente contaminado; esta relación sugiere que hay una respuesta al estrés que favorece a los organismos con mejores condiciones generales en un ambiente contaminado, y dada la naturaleza genética de esta relación, dicha respuesta podría ser heredable.

Con respecto a los costos de la tolerancia, en caso de haberlos y de acuerdo con las hipótesis planteadas en el capítulo 3, esperábamos observar una correlación positiva entre la fecundidad y los otros caracteres en la población de origen contaminado, como consecuencia de una disminución en sus valores fenotípicos. Esto lo pudimos observar al analizar la relación entre la fecundidad y tiempo de desarrollo, donde la población de origen no contaminado no presentó correlación alguna; pero la población de origen contaminado presentó una correlación ambiental positiva en los tratamientos de 0 y 5 mM. Una posible explicación es que esta población, al estar adaptada a un ambiente

contaminado, tuviera un mayor gasto energético, para mantener la función de tolerancia en un ambiente libre de contaminación durante las 20 generaciones de endogamia. Esto sugiere que durante las 20 generaciones en un ambiente libre de contaminación ocurrió selección sobre la condición en la población de origen contaminado, debido a que esta población pagó los costos de la tolerancia. Como resultado, al momento en el que se realizó el experimento, esta población estaba menos adaptada al ambiente contaminado, y la presencia de zinc afectó esta relación en el ambiente con mayor concentración de zinc, donde observamos que la correlación positiva se pierde. Esto sugiere que después de las 20 generaciones de endogamia, la población de origen contaminado estaba maladaptada a los ambientes contaminados, como había sido observado por Martínez (2016). Dicha maladaptación también se observa en otras correlaciones entre caracteres (fecundidad con sobrevivencia; y longevidad con tiempo de desarrollo, donde el signo de la correlación cambia de negativo a positivo en ambientes con mayor concentración de zinc), a excepción de aquella entre fecundidad con longevidad, donde la correlación se rompe en un ambiente contaminado.

En conjunto, la mayoría de las relaciones entre los caracteres de historia de vida analizados fueron plásticas, esto es, que pueden cambiar dependiendo del ambiente. Esto se observa por ejemplo, en la correlación entre la sobrevivencia a la edad adulta y la fecundidad, donde el análisis fenotípico muestra diferencias significativas en las poblaciones en los diferentes ambientes; mientras que en el análisis genético en la población de origen contaminado, para esta misma relación, se observa una correlación ambiental estadísticamente significativa cuyo signo cambia de negativo en ambientes sin contaminación a positiva en ambientes contaminados. También observamos que las correlaciones son, en su mayoría, positivas en ambientes contaminados, lo cual puede deberse, como se mencionó anteriormente, a la selección sobre la condición de los organismos que pudo haber ocurrido durante las 20 generaciones de endogamia.

La literatura sugiere que el tiempo de desarrollo es adaptativo (Sorensen y Loeschcke, 2004; Parsons, 2007; Seslija y Tucic, 2003), así mismo lo sugieren nuestros resultados, como es el caso de las relaciones entre el tiempo de desarrollo y la longevidad; y entre el

tiempo de desarrollo y la fecundidad, en los cuales existe un posible compromiso fisiológico en ambas poblaciones. Sin embargo, la información que arrojan los análisis genéticos sobre la correlación entre el tiempo de desarrollo y la longevidad, y entre tiempo de desarrollo y la fecundidad no nos permite determinar si son heredables.

El análisis de las correlaciones y compromisos expuestos en los párrafos anteriores nos han permitido observar las diferencias entre las poblaciones. Dichas diferencias las hemos explicado por los distintos trasfondos genéticos de cada una de las poblaciones o como producto de la selección sobre la condición de los organismos de la población de origen contaminado durante las 20 generaciones de endogamia. El análisis también nos ha permitido observar las similitudes entre las poblaciones ya fuera por una disminución de la varianza genética de uno de los caracteres o la probable existencia de una preadaptación inherente a las poblaciones naturales. También encontramos que la mayoría de estas correlaciones y compromisos son susceptibles a los cambios ambientales, es decir, que pueden ser plásticas. Con todo lo anteriormente mencionado, podríamos decir que hemos contestado a nuestra pregunta inicial sobre si estas poblaciones se diferencian en los compromisos entre sus caracteres de historia de vida y si estos se modificaban con el ambiente. Sin embargo, no hemos podido desentrañar si estos compromisos son adaptativos o no debido a que no encontramos un componente genético significativo en ellos, ya sea porque no existe, o porque nuestro estudio se vio limitado de tal manera que no nos permitió observarlas. Dichas limitaciones en el estudio incluyen el hecho de que, a pesar de que realizamos el mayor número de cruza posibles con las familias que teníamos disponibles, el poco éxito que éstas tuvieron, dio como resultado una cantidad de familias más pequeño de lo que esperábamos, lo que constituyó un tamaño de muestra que no dio los grados de libertad suficientes para una análisis de correlaciones genéticas, que considerara todos los factores del diseño experimental (caracteres, población, tratamiento, padres) y sus interacciones. Esto nos obligó a realizar los análisis de cada combinación de población y concentración por separado y no en conjunto que habría sido óptimo. En añadidura, el tamaño de muestra pequeño no permitió tener resultados para algunas combinaciones de población y

concentración en el diseño experimental, y no pudimos observar las correlaciones genéticas, en caso de existir. También, en el caso de la relación entre la fecundidad y la longevidad no pudimos observar ninguna relación entre los caracteres, tal vez porque el estudio se realizó en machos, y sólo se midió la fecundidad de un día. Aunque, también, cabe la posibilidad de que no hubiera varianza genética para la longevidad como lo mostró Martínez (2016) en el estudio de la varianza genética para las mismas poblaciones.

Por último, en aras de proponer un siguiente paso en el estudio de la adaptación de organismos a ambientes modificados en el caso de *Drosophila melanogaster*, proponemos que los datos obtenidos en este trabajo sirvan para realizar un análisis de poder estadístico, que permita establecer un tamaño de muestra óptimo (Quinn y Keough, 2002) para estudios similares a este. Así mismo proponemos la mejora del diseño experimental con menos variables para aumentar el poder de la prueba, donde se tome en cuenta los posibles limitantes experimentales, como pueden ser: el manejo de organismos, sustancias, costos e infraestructura. Por ejemplo, el uso de cepas de moscas desarrolladas para uso en laboratorio y preadaptadas a las diferentes condiciones ambientales a probar, lo que mejoraría el éxito de las cruces; utilizar un solo tipo de apareamiento, y únicamente dos tratamientos experimentales en lugar de tres

Como perspectivas en el análisis de correlaciones genéticas, el uso de las nuevas tecnologías de análisis genómicos y de biología molecular podrían permitirnos ahondar más el tema de las correlaciones entre caracteres, y no sólo identificar su presencia, sino también aclarar cuáles son las variantes genéticas que las causan y como éstas se heredan o participan en las diferentes vías funcionales; así como ayudar a aclarar los mecanismos que las originan (Saltz et al. 2017); por ejemplo, la secuenciación genética de alta resolución, junto con tendencias poblacionales y el mapeo de asociación, podría ayudar a identificar los genes que contribuyen a la divergencia adaptativa (Parker et al. 2018) a identificar la naturaleza de la correlación, es decir, si ésta se debe a ligamiento genético o a pleiotropía (Colosimo et al 2005); o a desentrañar la arquitectura genética de la correlación, es decir, si hay genes con efectos grandes o muchos genes con efectos pequeños, (por ejemplo, a través de los estudios de asociación de todo el genoma,

GAWASs por sus siglas en inglés (Saltz et al. 2017); o a través de la detección de caracteres cuantitativos, QTN's por siglas en inglés (Rockman, 2012)). En añadidura, los análisis en el transcriptoma y las técnicas de edición de genoma (como por ejemplo el sistema CRISPR-Cas), usadas para investigar la función de los genes. permitirían identificar los genes involucrados en la regulación de las proteínas frente al estrés abiótico y su relación con otras funciones del organismo, (Singh et al., 2018; Terns y Terns, 2014). De esta manera, actualmente es posible formular y probar hipótesis sobre las consecuencias evolutivas de la arquitectura genética; por ejemplo: el cómo es que las correlaciones genéticas se mantienen a lo largo el tiempo evolutivo; cómo son las redes de regulación y cuál es su papel en la producción de correlaciones; y qué tan rápido éstas evolucionan (Saltz et al. 2017) y por lo tanto se abre un nuevo espectro de posibles investigaciones.

En conclusión, este trabajo nos permitió observar que las poblaciones se encuentran diferenciadas entre sí, y que dichas diferencias se mantuvieron en las poblaciones, a pesar de las 20 generaciones de endogamia en un ambiente libre de contaminación. También proponemos que las similitudes observadas entre poblaciones, en la expresión de correlaciones en el ambiente contaminado, pueden deberse a posibles pagos de la tolerancia que provocaron una presión de selección sobre la población de origen contaminado, durante estas 20 generaciones, en un ambiente libre de contaminante, y su posterior maladaptación a ambientes contaminados. A lo anterior sumamos una posible preadaptación en la población de origen no contaminado al estrés lo que nos permite decir que las poblaciones naturales tienen cierta capacidad de respuesta a los cambios ambientales. Esta posible preadaptación puede deberse a la presencia de algunos mecanismos de resistencia a los metales pesados, tal como lo muestra el carácter plástico de las relaciones analizadas. Dicha plasticidad nos permite afirmar que el ambiente es un factor importante en la expresión de los compromisos y/o correlaciones entre caracteres de historia de vida.

Referencias

- Arcega-Cabrera, F., Armienta, M.A., Daesslé, L.W., Castillo-Blum, S.E., Talavera, O., Dótor, A. (2009). Variation of PB in a mine-impacted tropical river, Taxco, Mexico: use of geochemical, isotopic and statistical tools. *Applied Geochemistry*, 24 (1): 162-171
- Archer, M. A., Phelan, J. P., Beackman, K. A. y Rose, M. R. (2003). Breakdown in correlations during laboratory evolution. II. Selection on stress resistance in *Drosophila* populations. *Evolution*, 57(3): 536-543
- Armitage, S.A.O., Thompson, J.J.W., Rolff, J. y Siva-Jothy, M.T. (2003). Examining costs of induced and constitutive immune investment in *Tenebrio molitor*. *J. Evol. Biol.*, 16:1038-1044
- Ballard, J. W. O., Melvin, R.G. y Simpson, S.J. (2008). Starvation resistance is positively correlated with body lipid proportion in five wild caught *Drosophila simulans* populations. *Journal of Insect Physiology*, 54:1371-1376
- Bautista, F. (1999). Introducción al Estudio de la contaminación del suelo por metales pesados. México, Yucatán: Págs. 31-34
- Borash, D. J., Teotónio, H., Rose, M.R., y Mueller, L. D. (2000). Density-dependent natural selection in *Drosophila*: correlations between feeding rate, development time and viability. *J. Evol. Biol.*, 13: 181-187
- Borash, D.J. y Ho, G.T. (2001). Patterns of selection: stress resistance and energy storage in density-dependent populations of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 47:1349-1356.
- Braendle, C., Heyland, A. y Flatt, T. (2011). Integrating mechanistic and evolutionary analysis of life history variation. En Flatt, T. y Heyland, A. eds. 2011. *Mechanisms of*

life history evolution: the genetics and physiology of life history traits and trade-offs
Oxford: Oxford University Press. Págs. 3-10.

Brulle, F., Mitta, G., Leroux, R., Lemiére, S., Lepretre, A., Vandenberghe, F. (2007). The strong induction of metallothionein gene following cadmium exposure transiently affects the expression of many genes in *Eisenia fetida*: A trade-off mechanism?. *Comp. Biochem. Physiol.*, 144C: 334-421

Charnov, E. L. y Berrigan, D. (1990). Dimensionless numbers and life history evolution age of maturity versus the adult lifespan. *Evolutionary Ecology*, 40: 273-275

Chippindale, A. K., Alipaz, J. A. y Rose, M. R. (2004). Experimental evolution of accelerated development in *Drosophila*. 2. Adult fitness and the fast development syndrome. En Rose, M.R., Passanati, H. B. y Matos, M. *Methuselah flies: a case study in the evolution of aging* (Pp. 413-433) USA: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.

Chippindale, A. K., Chu, T. J.F. y Rose, M. R. (1996). Complex trade-offs and the Evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 50(2): 753-766

Chippindale, A. K., Hoang, D.T., Service, P. M. y Rose, M. R. (1994). The evolution of development in *Drosophila melanogaster* selected for postponed senescence. *Evolution*, 48 (6): 1880-1899

Colosimo, P.F., Hosemann K.E., Balabhadra, S., Villarreal, G., Dickson, M., Grimwood, J., Schmutz, J., Myers R.M., Schluter, D., Kingsley, D.M. (2005) Widespread parallel evolution in sticklebacks by repeated fixation of ectodysplasin alleles. *Science* 307, 1928–1933

De Loff, A. (2011). Longevity and aging in insects: is reproduction costly; cheap; beneficial or irrelevant? A critical evaluation of the “trade-off” concept. *Journal of Insect Physiology*, 57: 1-11

- Dey, S., Prasad, N.G., Shakared, M., y Joshi, A. (2008). Laboratory evolution of population stability in *Drosophila*: constancy and persistence do not necessarily coevolve. *Journal of Animal Ecology*, 77: 670-677
- Edward, D. A. y Chapman, T. (2013). Life history variation in male mate choice in *Drosophila melanogaster*. *Animal Behavior*, 86: 260-275.
- Edward, D. A., y Chapman, T. (2011). Mechanisms underlying reproductive trade-offs: Costs of reproduction. En Flatt, T. y Heyland, A. eds. *Mechanisms of life history evolution: the genetics and physiology of life history traits and trade-offs* (137-152) Oxford: Oxford University Press.
- Eraly, D., Hebdrickx, F., Backeljau, T., Berboets, L. y Lens, L. (2011). Direct and indirect effects of metal stress on physiology and life history variation in field populations of a *Lycosid spider*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 1189-197
- Fernández, J., y López-Fanjul, C. (1996). Spontaneous mutational variances and covariances for fitness-related traits in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 143: 829-837
- Flatt, T. (2011). Survival costs of reproduction in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 46: 369-375.
- Fry, J. D. (2004). Estimation of genetic variances and covariances by restricted Maximum likelihood using PROC MIXED. En Saxton A. *Genetics analysis Complex traits using SAS*. SAS Institute publication
- Futuyma, D. (2013). *Evolution*. 3er. Ed. USA. Sinauer Associates Págs. 225-428
- Gasser, M., Kaiser, M., Berrigan, D., y Stearns, S. C. (2000). Life-history correlate of evolution under high and low adult mortality. *Evolution*, 54(4):1269-1272

- Gómez- Bernal, J. M., Santana-Carrillo, J., Romero-Martin, F., Armienta-Hernández, M. A., Morton-Bermea, O. y Ruiz-Huerta, E. A. (2010). Plantas de sitios contaminados con desechos mineros en Taxco, Guerrero, México. *Bol.Soc. Bot. Méx.*, 87: 131-133
- Gruber, J., Tang, S. Y. y Halliwell, Ba. (2007). Evidence for a trade-off between survival and fitness caused by resveratrol treatment of *Caenorhabditis elegans*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1100: 530-542
- Gustafsson, L., Qvaraström, A., y Sheldon, B. C. (1995). Trade-offs between life-history traits and a secondary sexual character in male collared flycatchers. *Nature*, 375: 311-313
- Harper F. A., Smith, S. E. , y Macnair, M. R. (1997). Where is the cost in copper tolerance in *Mimulus guttatus*? Testing the trade-off hypothesis. *Functional Ecology*, 11 (6): 764-774
- Harshman, L. G. y Zera, A.J. (2007). The cost of reproduction: the devil in the details. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(2):80-86
- Hendrickx, F., Maelfait, J.P., y Lens, L. (2007). Effect of metal stress on life history divergence and quantitative genetic architecture in a Wolf spider. *J. EVOL. BIOL*, 21: 183-193
- Hoffman, A. A., Hallas, R., Sinclair, C., y Partridge, L. (2001). Rapid loss of stress resistance in *Drosophila melanogaster* under adaptation to laboratory culture. *Evolution*, 55(2): 436-438.
- Hunt, J., Jennions, M. D., Spyrou, N., y Brooks, R. (2006). Artificial selection on male longevity influences age-dependent reproductive effort in the black field cricket *Teleogryllus commodus*. *The American Naturalist*, 168(3): E72-E86
- Jiménez-Ambriz, G. (2006). Hétérogenéité environmental et polymorphisme chez *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae): Étude conjointe de la diversité génétique neutre et

sélectionnée chez une espèce tolérante aux métaux lourds (Tesis de doctorado)
Universite Montpellier II Sciences et techniques du Languedoc. Francia

JMP[®] (2016). Versión 13.0. SAS Institute Inc.

Jordaens, K., De Wolf, H., van Houtte N., Vandecasteele B., Backeljaut. (2006). Genetic variation in two land snails, *Cepaea nemoralis* and *Succinea putris* (Gastropoda, Pulmonata), from sites differing in heavy metal content. *Genetica*, 128: 227-239

Kramarz, P., y Laskowski R. (1997). Effect of zinc contamination on life history parameters of ground beetle, *Poecilus cupreus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 59: 525-530

Lagiz, M., Kramarz, P., Laskowski, R., Tobor, M. (2002). Population paramters of the Beetle *Ptostichus oblongopunctatus* F. from metal contaminated and reference areas. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 69: 243-249

Leroi, A. M., Chen, W. R. y Rose, M. R. (1994b). Long-term laboratory evolution of a genetic life-history trade-off in *Drosophila melanogaster*. 2. Stability of genetic correlations. *Evolution*, 48(4): 1258-1268.

Leroi, A. M., Chippindale, A. K., y Rose, M. R. (1994a). Long-term laboratory evolution of a genetic life-history trade-off in *Drosophila melanogaster*. 1. The role of genotype-by-environment-interaction. *Evolution*, 48(4): 1244-1257.

Leroi, A. M., Kim, S. B., y Rose, M. R. (1993). The evolution of phenotypic life-history trade-offs: an experimental study using *Drosophila melanogaster*. *The American Naturalist*, 144(4): 661-678

Lung, O., Tram, U., Finnerty, C.M., Eipper-Mains, M.A., Kalb, J.M. y Wolfner, M.F. (2002). The *Drosophila melanogaster* seminal fluid protein Acp62F is a protease inhibitor that is toxic upon ectopic expression. *Genetics*, 160: 211-224

Lynch, M. y Walsh, B. (1998). *Genetics and analysis of Quatitative Traits*. Sinauer Associates.

- Marshall, K. E. y Sinclair, B. J. (2010). Repeated stress exposure results in a survival-reproduction trade-off in *Drosophila melanogaster*. *Proc. R. Soc. B.*, 277: 963-969.
- Martínez, M. (2016). *Variación genética y plasticidad fenotípica en caracteres de historia de vida de moscas Drosophila melanogaster provenientes de poblaciones contaminadas y no contaminadas por metales pesados* (Tesis de licenciatura). Facultad de ciencias. UNAM. México.
- Martínez, M., Cruz, R., Castrejón J. F., Valencia S., Jiménez J., y Ruiz-Jiménez C. A. (2004). Flora vascular de la porción guerrerense de la Sierra de Taxco, Guerrero, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 75 (2): 105-89.
- McKean, K.A. and Nunney, L. (2005). Bateman's principle and immunity: phenotypically plastic reproductive strategies predict changes in immunological sex differences. *Evolution*, 59: 1510-1517
- Messina, F.J. y Fry, J.D. (2003). Environment-dependent reversal of a life history trade-off in the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. *J.EVOL.BIOL.*, 16: 501-509
- Metcalfe, N. B., y Monaghan, P. (2013). Does reproduction cause oxidative stress? An open question. *Trends in Ecology & Evolution*, 25 (5): 347-350
- Minois, N. (2000). Longevity and aging: beneficial effects of exposure to mild stress. *Biogerontology*, 1: 15-29
- Mishra, G., y Omkar. (2006). Ageing trajectory and longevity trade-off and aphidophago ladybird, *Propylea dissecta* (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur. J. Entomol*, 103: 33-40
- Miyatake, T. (1997). Genetic trade-off between early fecundity and longevity in *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Heredity*, 78: 93-199
- Morgan A. J., Killie, P., y Sturzanbaum, S. R. (2007). Microevolution and ecotoxicology of metals in invertebrates. *Environ. Sci. Technol.*, 41: 1085-1096.

- Mouseeou, T.A., y Dingle, H. (1991). Maternal effects in insect life histories. *Annu. Rev. Entomol.*, 35: 511-34
- Norry, F. M. y Loeschcke, V. (2002). Temperature-Induced Shifts in Associations of Longevity with Body size in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 56(2): 299-306
- Nunney, L. (1996). Response to selection for fast larval development in *Drosophila melanogaster* and its effect on adult weight: an example of fitness trade-off. *Evolution*, 50(33): 1193-1204
- Pankaj, Y. y Sharma, V. K. (2014). Correlated changes in life history traits in response to selection for faster pre-adult development in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *The Journal of Experimental Biology*, 217: 580-589
- Parker, D.J., Winberg, R.A.W., Trivedi, U., Tyukmaeva V. I., Gharbi, R. K. Butlin, Hoikkala, A., Kanlare, M. y Ritchie, M. G. (2018) Inter-and intra-specific divergence in *Drosophila Montana* shows evidence for cold adaptation. <http://dx.doi.org/10.1101/282582>.
- Parsons, A. P. (2007). Energetic efficiency under stress underlies positive genetic correlations between longevity and other fitness traits in natural populations. *Biogerontology*, 8:55-61
- Partridge, L. y Andrews, R. (1985). The effect of reproductive activity on the longevity of male *Drosophila melanogaster* is not caused by an acceleration of ageing. *J. Insect. Physiol.*, 31(5): 393-395.
- Partridge, L. y Gems D. (2002). The evolution of longevity. *Current Biology*, 12 (16): R44-R46
- Passananti, H. B. (2000). Studies of postponed aging in *Drosophila melanogaster*. Ph.D. Diss. Biological Sciences, University of California, Irvine.

- Posthuma, L. y Van Straalen, N.M. (1993). Heavy-metal adaptation in terrestrial invertebrates: a review of occurrence genetics, physiology and ecological consequences. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106C (1): 11-38
- Phelan, J. P., M. A. Archer, K. A. Beckman, A. K. Chippindale, T. J. Nusbaum, and M. R. Rose. (2003). Breakdown in correlations during laboratory evolution. I. Comparative analyses of *Drosophila* populations. *Evolution*, 57: 527-535.
- Promislow, D.E.L., y Bugbee, M. (2000). Direct and correlated responses to selection on age at physiological maturity in *Drosophila simulans*. *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 955-966.
- Prowse, N., y Patridge, L. (1997). The effects of reproduction on longevity and fertility in male *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.*, 43 (6): 501-512
- Quinn, G.P. y Keough, M. J. (2002) *Experimental Design and Data Analysis for Biologists* (pp. 164-177) Cambridge: Cambridge University Press.
- Rockman, M.V. (2012) The QTN program and the alleles that matter for evolution: all that's gold does not glitter. *Evolution*, 66:1-17
- Rodrigues, M. A., Martines N. E., Balancé, L. F., Broom, L. N., Dias, A. J. S., Fernandes, A. S. D., Rodrigues, F., Sucena, É., y Mirth, C.K. (2015). *Drosophila melanogaster* larvae make nutritional choices that minimize developmental time. *Journal of Insect Physiology*, 81:69-80
- Roff, A. D. (2002). *Life history evolution*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. Pags. 35-60, 145-177
- Roff, D. A. (2000). Trade-offs growth and reproduction: an analysis of the quantitative genetic evidence. *J. EVOL. BIOL.*, 13: 434-445
- Roff, D.A. (1997). *Evolutionary quantitative genetics*. United States of America: Chapman & Hall. Págs. 73-116

- Rose, M. R. (1984a). Evolution of postponed senescence in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 38(5): 1004-1010
- Rose, M. R. (1984b). Genetic covariation in *Drosophila* life history: untangling the data. *The American Naturalist*, 123(4): 565-569
- Rose, M.R., Passananti, H.B., Chippindale, A.K., Phelan, J.P., Matos, M., Teotónio y Mueller L.D. (2005). The effects of evolution are local evidence from experimental Evolution in *Drosophila*. *Integrative and Comparative Biology*, 45(3): 486-491
- Salmon, A.B., Marx, D.B. y Harshman, L.G. (2001). A cost of reproduction in *Drosophila melanogaster*: stress susceptibility. *Evolution* 55: 1600-1608
- Saltz, J.B., Hassel, F.C. y Kelly, M. W. (2017) Trait correlations in the Genomic Era. *Trends in ecology & evolution*, 37 (4):279-290
- SAS Institute. (2002). SAS[®] version 9.0. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Scannapieco, A.C., Sambucetti, P., y Norry, F. M. (2009). Direct and correlated responses to selection for longevity in *Drosophila buzzatii*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97: 738-748.
- Service, P M. and M. R. Rose. (1985). Genetic covariation among life history components: The effect of novel environments. *Evolution*, 39: 943-945.
- Seslija, D. y Tucic, N. (2003). Selection for developmental time in bean weevil (*Acanthoscelides obtecus*): correlated responses for other life history traits and genetic architecture of line differentiation. *Entomologia Experimentalts et Applicata*, 106: 19-35.
- Sevenster, J. G. y Van Alphen, J. J. M. (1993). A life history trade-off in *Drosophila* species and community structure in variable environments. *Journal of Animal Ecology*, 62(4): 720-736

- Seyahooei, M. A., Van Alphen, J. J. M. y Kraaijeveld, K. (2011). Metabolic rate affects adult life span independently of developmental rate in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103: 45-56
- Shirley, M. D. F., y Sibly, R. M. (1999). Genetic basis of a between-environment trade-off involving resistance to cadmium in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 53 (3): 826-836
- Shirley, M. D. F., y Sibly, R.M. (2001). Metapopulation dynamics of fruit flies undergoing evolutionary change in patchy environments. *Ecology*, 82(11): 3257-3262.
- Simons, A. M., y Roff, D.A. (1996). The Effect of a variable environment on the genetic correlation structure in a field cricket. *Evolution*, 50 (1): 267-275
- Singh, A., Nath, O., Singh, S., Kumar, S., Kumar-Singh, I. (2018) Genome-wide identification of the MAPK gene family in chickpea and expression analysis during development and stress response. *Plant gene*, 13:25-35
- Sorensen, J. G. y Loeschcke, V. (2004). Effects of relative emergence time on heat stress resistance traits, longevity and hsp70 expression level in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Thermal Biology*, 29: 195-203.
- Stanton, M.L., Roy, B. A. y Thiede D.A. (2000). Evolution in stressful environments. I. Phenotypic variability phenotypic selection, and response to selection in five distinct environmental stresses. *Evolution*, 54 (1): 93-111
- Stearns, S. C. (1992). *The evolution of life histories*. Oxford: Oxford University Press. Págs. 20-38, 72-89
- Tatar, M., Kioekna A., Epstein, D., Tu, MP., Yin, C.M. y Garofalo R.S. (2001). A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life span and impairs neuroendocrine function. *Science*, 292: 107-110

- Teder, T., Tammaru, T., y Esperk, T. (2008). Dependence of phenotypic variance in body size on environmental quality. *The American Naturalist*, 172 (2): 223-232
- Terns R. M. y Terns, M.P. (2014). CRISPR-based technologies: prokaryotic defense weapons repurposed. *Trends in genetics*, 30(3):111-118
- Travers, L. M., García-González, F., y Simmons, L. W. (2015). Live fast die young life history in females: evolutionary trade-off between early life mating and lifespan in female *Drosophila melanogaster*. *Scientific Reports*, 5(15469). Recuperado el 8 de noviembre de 2015, de <https://www.nature.com/articles/srep15469>
- Van Noordwijk, J.A. y De Jong, G. (1986). Acquisition and Allocation of Resources: their Influence on Variation in Life History Tactics. *The American Naturalist*, 128(1): 137-142
- Vermeulen, C.J., Van De Zande, L., Bijlsma, R. (2006). Developmental and age-specific effects of selection on divergent virgin life span on fat content and starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 52: 910-919
- Wang, Y., Salmon, A. B., Harshman, L. H. (2001). A cost of reproduction: oxidative stress susceptibility is associated with increased egg production in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 36: 1349-1359
- Wigby, S. and Chapman, T. (2005). Sex peptide causes mating costs in female *Drosophila melanogaster*. *Curr. Biol.*, 15: 316-321
- Wit, J., Sarup, P., Lupsa, N., Malte, H., Frydenberg, J., Loeschcke, V. (2013). Longevity for free? Increased reproduction with limited trade-offs in *Drosophila melanogaster* selected for increased life span. *Experimental Gerontology*, 48: 349-357
- Xie, L. y Klerks, P. L. (2004). Fitness cost of resistance to cadmium in the least killifish (*Heterandria Formosa*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(6): 1499-1503

- Yadav, J. P. y Singh, B. N. (2007). Evolutionary genetics of *Drosophila ananassae*: evidence for trade-offs among several fitness traits. *Biological Journal of the Linnean Society*, 90: 669-685
- Zera, A. y Zhao, Z. (2003). Life-history evolution and the microevolution of intermediary metabolism: activities of lipid-metabolizing enzymes in life-history morphs of a wing dimorphic cricket. *Evolution*, 57: 568-596
- Zera, A.J. (2005). Intermediary metabolism and life history trade-offs: Lipid metabolism in lines of the wing-polymorphic cricket, *Gryllus firmus*, selected for flight capability vs. early age reproduction. *Integr. Comp. Biol.*, 45: 511-524
- Zhao, Z. y Zera, A.J. (2002). Differential lipid biosynthesis underlies a tradeoff between reproduction and flight capability in a wing-polymorphic cricket. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 99: 16829-16834